



HAL
open science

Étude clinique et épidémiologique d'une épidémie D'EHV-1 au cours d'un concours international de saut d'obstacles (CSI) à Valence - Espagne

Maureen Longrais

► **To cite this version:**

Maureen Longrais. Étude clinique et épidémiologique d'une épidémie D'EHV-1 au cours d'un concours international de saut d'obstacles (CSI) à Valence - Espagne. Sciences du Vivant [q-bio]. 2023. dumas-04021779

HAL Id: dumas-04021779

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04021779v1>

Submitted on 9 Mar 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**Oniris - Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, Agroalimentaire et de
l'Alimentation**

ANNEE 2023 - Thèse n°6

**ETUDE CLINIQUE ET EPIDEMIOLOGIQUE D'UNE
EPIDEMIE D'EHV-1 AU COURS D'UN CONCOURS
INTERNATIONAL DE SAUT D'OBSTACLES (CSI) A
VALENCE - ESPAGNE**

THÈSE

pour l'obtention du diplôme d'État de

DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

présentée et soutenue publiquement devant
l'UFR de Médecine de l'Université de Nantes

le 03 Mars 2023

par

Maureen, Melissa, Noémie LONGRAIS

Sous la direction de

Anne COUROUCÉ

Président du jury : Monsieur Hervé POULIQUEN, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire,
Agroalimentaire et de l'Alimentation de Nantes – Oniris

Membres du jury : Madame Anne COUROUCÉ, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire,
Agroalimentaire et de l'Alimentation de Nantes – Oniris

Madame Léa LOISEL, Assistante d'enseignement et de recherche à l'Ecole
Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation de Nantes –
Oniris

**Oniris - Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, Agroalimentaire et de
l'Alimentation**

ANNEE 2023 - Thèse n°6

**ETUDE CLINIQUE ET EPIDEMIOLOGIQUE D'UNE
EPIDEMIE D'EHV-1 AU COURS D'UN CONCOURS
INTERNATIONAL DE SAUT D'OBSTACLES (CSI) A
VALENCE - ESPAGNE**

THÈSE

pour l'obtention du diplôme d'État de

DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

présentée et soutenue publiquement devant
l'UFR de Médecine de l'Université de Nantes

le 03 Mars 2023

par

Maureen, Melissa, Noémie LONGRAIS

Sous la direction de

Anne COUROUCÉ

Président du jury : Monsieur Hervé POULIQUEN, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire,
Agroalimentaire et de l'Alimentation de Nantes – Oniris

Membres du jury : Madame Anne COUROUCÉ, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire,
Agroalimentaire et de l'Alimentation de Nantes – Oniris

Madame Léa LOISEL, Assistante d'enseignement et de recherche à l'Ecole
Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation de Nantes –
Oniris

Liste des enseignants et enseignants-chercheurs d'ONIRIS

Département BPSA Biologie, Pathologie et Sciences de l'Aliment		
Responsable : Emmanuel JAFFRES – Adjointe : Frédérique NGUYEN		
<i>Nutrition et endocrinologie</i>		
<i>Pharmacologie et Toxicologie</i>	Jean-Claude DESFONTIS (Pr) Yassine MALLEM (Pr) Hervé POULIQUEN (Pr)	Antoine ROSTANG (MC) Meg-Anne MORICEAU (CERC) Martine KAMMERER (Pr émérite)
<i>Physiologie fonctionnelle, cellulaire et moléculaire</i>	Jean-Marie BACH (Pr) Lionel MARTIGNAT (Pr) Julie HERVE (MC HDR)	Grégoire MIGNOT (MC) Solen GAVAUD (CERC)
<i>Histologie et anatomie pathologique</i>	Marie-Anne COLLE (Pr) Jérôme ABADIE (MC)	Laetitia JAILLARDON (MC) Frédérique NGUYEN (MC)
<i>Pathologie générale, microbiologie et immunologie</i>		
<i>Biochimie alimentaire industrielle</i>	Carole PROST (Pr) Joëlle GRUA (MC) Clément CATANEO (MC)	Alix KHALIL (MC) Laurent LE THUAUT (MC)
<i>Microbiotech</i>	Hervé PREVOST (Pr) Géraldine BOUE (MC) Nabila HADDAD (MC) Emmanuel JAFFRES (MC)	Mathilde MOSSER (MC) Boris MISERY (MC) Raouf TAREB (MC) Quentin PRUVOST (CEC)
<i>PACENV = VET1</i>	Eléonore BOUGUYON (Pr Ag)	Nicolas BROSSAUD (Pr Ag)

Département SAESP Santé des Animaux d'Élevage et Santé Publique		
Responsable : Raphaël GUATTEO – Adjoint : Jean-Michel CAPPELIER		
<i>Élevage, nutrition et santé des animaux domestiques</i>	Nathalie BAREILLE (Pr) François BEAUDEAU (Pr) Christine FOURICHON (Pr) Lucile MARTIN (Pr)	Juan Manuel ARIZA CHACON (MC) Ségolène CALVEZ (MC HDR) Aurélien MADOUASSE (MC) Nora NAVARRO-GONZALEZ (MC)
<i>Infectiologie</i>	Alain CHAUVIN (Pr) François MEURENS (Pr) Emmanuelle MOREAU (Pr) Nathalie RUVOEN-CLOUET (Pr)	Albert AGOULON (MC) Suzanne BASTIAN (MC) Léa LOISEL (AERC) Kenny OBERLE (MC) Nadine RAVINET (MC)
<i>Médecine des animaux d'élevage</i>	Catherine BELLOC (Pr) Christophe CHARTIER (Pr) Raphaël GUATTEO (Pr) Anne RELUN (MC)	Sébastien ASSIE (MC) Isabelle BREYTON (MC) Mily LEBLANC MARIDOR (MC) Maud ROUAULT (AERC)
<i>Hygiène et qualité des aliments</i>	Jean-Michel CAPPELIER (Pr) Louis DELAUNAY (CERC) Bruno LE BIZEC (Pr)	Marie-France PILET (Pr) Fanny RENOIS-MEURENS (MC HDR) Sofia STRUBBIA (MC)

Département DSC Sciences cliniques		
Responsable : Catherine IBISCH – Adjoint : Marion FUSELLIER-TESSON		
<i>Anatomie comparée</i>	Eric BETTI (MC) Claude GUINTARD (MC)	Margarida RIBEIRO DA SILVA NEUNLIST (MC)
<i>Pathologie chirurgicale et anesthésiologie</i>	Eric AGUADO (Pr) Olivier GAUTHIER (Pr) Eric GOYENVALLE (MC HDR)	Pierre MAITRE (MC) Caroline TESSIER (MC) Gwénola TOUZOT-JOURDE (MC) Claire DEFOURMESTRAUX (MC)
<i>Dermatologie, parasitologie des carnivores et des équidés, mycologie</i>	Jacques GUILLOT (Pr) Emmanuel BENSIGNOR (Pr Ass)	Sabrina VIEU (AERC)
<i>Médecine interne, imagerie médicale et législation professionnelle vétérinaire</i>	Anne COUROUCE (Pr) Jack-Yves DESCHAMPS (Pr) Françoise ROUX (Pr) Juan HERNANDEZ-RODRIGUEZ (Pr Ass) Nora BOUHSINA (MC)	Nicolas CHOUIN (MC) Amandine DRUT (MC) Marion FUSELLIER-TESSON (MC HDR) Catherine IBISCH (MC) Aurélia LEROUX (MC) Odile SENECAT (MC)
<i>Biotechnologies et pathologie de la reproduction</i>	Jean-François BRUYAS (Pr) Francis FIENI (Pr)	Djemil BENCHARIF (Pr) Lamia BRIAND (MC HDR)

Département GPA Génie des procédés alimentaires		
Responsable : Sébastien CURET-PLOQUIN – Adjointe : Vanessa JURY		
Lionel BOILLEREAUX (Pr) Sébastien CURET PLOQUIN (Pr) Marie DE LAMBALLERIE (Pr) Francine FAYOLLE (Pr) Michel HAVET (Pr)	Alain LEBAIL (Pr) Olivier ROUAUD (Pr) Kevin CROUVISIER-URION (MC) Vanessa JURY (MC HDR) Emilie KORBEL (MC)	Jean-Yves MONTEAU (MC HDR) Eve-Anne NORWOOD (MC) Raphaël PORYLE (MC) Laurence POTTIER (MC) Cyril TOUBLANC (MC)
PAC-ING	Cyril Gaillard (PCEA)	

Département MSC Management, statistiques et communication		
Responsable : Samira ROUSSELIERE - Adjointe : Véronique CARIOU		
<i>Mathématiques, statistiques, informatique</i>	El Mostafa QANNARI (Pr émérite) Chantal THORIN (Pr Ag) Evelyne VIGNEAU (Pr)	Véronique CARIOU (Pr) Benjamin MAHIEU (MC) Michel SEMENOU (MC)
<i>Economie, gestion, législation</i>	Jean-Marc FERRANDI (Pr) Pascal BARILLOT (MC) Ibrahima BARRY (MC) Florence BEAUGRAND (MC)	Sibylle DUCHAINE (MC) Sonia MAHJOUR (MC) Samira ROUSSELIERE (MC) Christophe PAPINEAU (Ens. Cont.)
<i>Langues et communication</i>	Marc BRIDOU (PLPA) David GOYLER (Ens. cont.) Nathalie GOODENOUGH (PCEA) Patricia JOSSE (Ens. Cont.)	Shaun MEEHAN (Ens. cont.) Linda MORRIS (PCEA) Ian NICHOLSON (Ens. Cont.)

Pr : Professeur ; **Pr Ag** : Professeur Agrégé ; **Pr Ass** : Professeur Assistant ; **MC** : Maître de Conférences ; **CERC** : Chargé d'Enseignement et de Recherche Contractuel ; **AERC** : Assistant d'Enseignement et de Recherche Contractuel ; **HDR** : Habilité à Diriger des Recherches ; **PLPA** : Professeur de Lycée Professionnel Agricole ; **PCEA** : Professeur Certifié d'Enseignement Agricole ; **Ens. Cont.** : Enseignant contractuel.

La reproduction d'extraits est autorisée avec mention de la source. Toute reproduction partielle doit être fidèle au texte utilisé. Cette thèse devra donc être citée comme suit :

LONGRAIS M. (2023). Etude clinique et épidémiologique d'une épidémie d'EHV-1 au cours d'un Concours de Saut d'Obstacles International (CSI) à Valence – Espagne. Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de Médecine, Nantes, Oniris : Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation, Nantes Atlantiques, XX p.

Le défaut de citation est considéré comme du plagiat. Ce dernier est puni par la loi française et passible de sanctions allant jusqu'à 3 ans d'emprisonnement et de 300 00€ d'amende.

Table des matières

Liste des enseignants et enseignants-chercheurs d'ONIRIS.....	3
Table des annexes	9
Table des figures	11
Table des tableaux.....	13
Table des abréviations	15
Introduction	17
Partie 1 – Contexte réglementaire des évènements de la FEI (avant l'épidémie)	19
1.1. Vaccination.....	20
1.2. Installations	20
1.3. Biosécurité.....	21
1.4. Contrôles vétérinaires	21
1.5. Procédures d'urgence	22
Partie 2 – Matériels et méthodes.....	25
2.1. Chevaux et conditions d'hébergement	26
2.2. Chronologie et mouvement des chevaux.....	29
2.3. Tests diagnostics.....	35
2.4. Analyses statistiques	36
Partie 3 – Résultats.....	39
3.1. Chevaux.....	40
3.2. Statut vaccinal	42
3.3. Chronologie	43
3.4. Signes cliniques	44
3.5. Vaccination et signes cliniques	46
3.6. Facteurs de risque	47
3.6.1. Signes cliniques et sexe.....	47
3.6.2. Signes cliniques et âge	49

3.6.3. Signes cliniques et hébergement	49
3.6.4. Signes cliniques et test PCR	49
3.7. Tests diagnostics.....	51
Partie 4 – Discussion.....	55
4.1. Biosécurité.....	56
4.2. Vaccination.....	58
4.3. Signes cliniques	60
4.4. Facteurs de risque	61
4.5. Tests diagnostics.....	63
4.5.1. PCR HVE-1.....	63
4.5.2. Isolement et caractérisation des virus	65
Partie 5 – Retour de la FEI sur l'évènement.....	69
5.1. Vaccination : une question centrale	70
5.2. Installation.....	72
5.3. Biosécurité : un nouveau point de contrôle.....	73
5.4. Contrôles vétérinaires : la révolution numérique	73
5.4.1. La FEI HorseApp	74
5.4.2. L'examen d'arrivée	74
5.4.3. Suivi des chevaux durant l'évènement.....	76
5.5. Procédures d'urgence	76
Conclusion	79
Bibliographie	81

Table des annexes

Annexe n° 1 : Exemple de plan d'écurie et de sens de circulation des chevaux, avec 6 mètres entre chaque bloc de 16 boxes.

Annexe n°2 : Check-list de la pré-inspection réalisée par les services vétérinaires de la FEI.

Annexe n°3 : EHV-1 By-Laws : règlement général HVE-1.

Table des figures

<i>Figure 1 : Plan du site de la compétition. Crédit image www.cesvalenciatour.com. ----</i>	<i>26</i>
<i>Figure 2 : Position des box dans les tentes. Environ 3,5 m entre deux rangées de box. Crédit photo Anne COUROUCÉ.-----</i>	<i>27</i>
<i>Figure 3 : Position des boxes sur le site de quarantaine avec emplacement des différents chevaux. Crédit Anne COUROUCÉ. -----</i>	<i>28</i>
<i>Figure 4 : Ouverture de la tente permettant l'aération. Crédit photo Anne COUROUCÉ. -----</i>	<i>28</i>
<i>Figure 5 : Box permanents en E2 sur la Figure 1. Crédit Photo www.cesvalenciatour.com.-----</i>	<i>29</i>
<i>Figure 6 : Boxes temporaires et éloignés de la grande tente, dans lesquels ont été placés les 4 chevaux de Guillaume BATILLAT à partir du 3 mars. Credit photo Anne COUROUCÉ. -----</i>	<i>33</i>
<i>Figure 7 : Mise en place de produits désinfectants sur des tapis « coco » à l'entrée des écuries pour que les cavaliers/grooms et chevaux passent dessus. Crédit photo Anne COUROUCÉ. -----</i>	<i>34</i>
<i>Figure 8 : Distribution des cas de fièvre et des cas de MEH au cours de l'épidémie de Valence ; entre le 14 février et le 6 mars. -----</i>	<i>44</i>
<i>Figure 9 : Durée de la fièvre (> 38,5°C) en jour (N = 50/60)-----</i>	<i>45</i>
<i>Figure 10 : Présentation clinique de la forme neurologique de l'HVE-1 chez les 20 chevaux atteints-----</i>	<i>45</i>
<i>Figure 11 : Proportions de chevaux sans ou avec fièvre, et avec ou sans signes neurologiques associés, selon le statut vaccinal-----</i>	<i>47</i>
<i>Figure 12 : Proportion de chevaux sans ou avec fièvre, et avec ou sans signes neurologiques, selon le sexe.-----</i>	<i>48</i>

Figure 13 : Arbre phylogénétique de tous les génomes HVE-1 disponibles, mettant en valeur les nouvelles souches Belges (n = 3) et Françaises (n = 2) en rouge dans le clade 10. Crédit Vereecke et al. (2021). ----- 67

Figure 14 : Protocole de vaccination rhinopneumonie pour les chevaux participant à des épreuves organisées par la SHF (sauf poulain sous la mère). Crédit www.shf.eu.----- 71

Figure 15 : Etape de l'examen à l'arrivée et arbre décisionnel selon la température. D'après le rapport HVE-1 de la FEI, Partie 2, Annexe 5----- 75

Table des tableaux

<i>Tableau 1 : Répartition des nations représentées dans la population suivie (n = 74), la population sur site (n = 160) et la population totale ayant participé à la compétition (n = 752).</i> -----	40
<i>Tableau 2 : Répartition des sexes dans la population suivie (n = 74), la population sur site (n = 160) et la population totale (n = 752).</i> -----	41
<i>Tableau 3 : Statut vaccinal au sein de la population suivie (n = 60) et la population sur site (n = 160).</i> -----	42
<i>Tableau 4 : Chronologie des évènements de Valence : nombre de chevaux hyperthermes et présentant des signes neurologiques (n = 60).</i> -----	43
<i>Tableau 5 : Facteurs potentiellement associés aux manifestations cliniques. Comparaison des témoins et des chevaux malades. Régression logistique univariée. --</i>	48
<i>Tableau 6 : Facteurs potentiellement associés aux manifestations cliniques. Comparaison des témoins, des chevaux avec seulement de la fièvre et des chevaux avec des signes neurologiques. Régression logistique multivariée et ordinale par catégorie adjacente.</i> -----	50
<i>Tableau 7 : Résultats des tests PCR obtenus par les laboratoires français et espagnols, avec des méthodes différentes.</i> -----	51
<i>Tableau 8 : Comparaison des résultats PCR entre écouvillon nasal en Espagne et écouvillon nasopharyngé en France.</i> -----	52
<i>Tableau 9 : Comparaison des résultats PCR entre écouvillon nasal et sang EDTA en Espagne.</i> -----	52
<i>Tableau 10 : Suivi de 21 chevaux français et 3 chevaux canadiens, par PCR sur écouvillon nasopharyngés - LABEO Franck Duncombe (Caen, France).</i> -----	54

Table des abréviations

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

CO : Comité d'Organisation, d'un évènement de la FEI

CSI : Concours International de Saut d'obstacle

EDTA : Acide éthylènediaminetétracétique

EI : Écart Interquartile

EN : Écouvillon Nasal

ENP : Écouvillon Nasopharyngé

FEI : Fédération Équestre Internationale

FFE : Fédération Française d'Équitation

HVE-1 : Herpèsvirus Équin de type 1

HVE-4 : Herpèsvirus Équin de type 4

IC : Intervalle de Confiance

IE : Influenza Équin, virus de la grippe équine

m : Moyenne

Me : Médiane

MEH : Myéloencéphalopathie Équine à Herpèsvirus

MLST : *MultiLocus Sequencing Typing*, typage par séquençage multilocus

MLV : *Modified Live Vaccine*, vaccin à virus vivant modifié

OR : *Odds Ratio*, rapport de côtes

ORF : *Open Reading Frame*, cadre de lecture ouvert

PCR : *Polymerase Chain Reaction*, réaction en chaîne par polymérase

qPCR : PCR quantitative

RESPE : Réseau d'Épidémio-Surveillance en Pathologie Équine

SHF : Société Hippique Française

SNP : *Single Nucleotide Polymorphism*, polymorphisme nucléotidique

TCID50 : *50% Tissue Culture Infectious Dose*, nombre de virus infectant 50% des cellules en culture

Vet Regulations : *Veterinary Regulations*, règlement vétérinaire de la FEI

Introduction

En 2018, une importante épidémie de rhinopneumonie a frappé la France et mené à un état des lieux de cette maladie sur notre territoire. Le Réseau d'Épidémiologie-Surveillance en Pathologie Équine (RESPE) estime alors que 70% des chevaux adultes étaient porteurs d'herpèsvirus sous forme latente et a estimé que seulement 20 à 30% étaient vaccinés contre la rhinopneumonie alors qu'il faudrait près de 80% de vaccinés pour avoir une bonne couverture vaccinale [1]. Les chevaux vaccinés étaient principalement des chevaux de courses pour qui cette vaccination est devenue obligatoire cette année-là. En effet depuis 2018, la vaccination contre la rhinopneumonie est devenue obligatoire pour l'ensemble des chevaux de courses au galop et au trot, avec un protocole à 3 injections : 2 injections séparées de 21 à 92 jours et une 3^{ème} injection entre 150 et 215 jours après la 2^{ème}, puis des rappels tous les 6 mois [2], [3]. Ce protocole, valable à la fois pour la grippe équine et la rhinopneumonie, a été mis à jour en 2021 avec toujours 3 injections, mais les deux premières injections séparées de 21 à 60 jours et la troisième entre 120 et 180 jours après la deuxième.

Pour rappel, sous le terme rhinopneumonie, sont regroupés deux herpèsvirus, le type 1 (HVE-1) et le type 4 (HVE-4), fortement contagieux avec des expressions cliniques variées. Tout d'abord une forme respiratoire assez proche de la grippe avec des signes généraux tel que de l'hyperthermie et de l'abattement, et des signes respiratoires avec un jetage séreux et une toux sèche. Généralement la résolution clinique est observée en 1 à 2 semaines. L'HVE-4 se limite généralement au tractus respiratoire supérieur [4], et se cantonne donc à la forme respiratoire de la rhinopneumonie. Par contre l'HVE-1 a une distribution systémique et atteint plusieurs organes, et prend donc d'autres formes. En effet, il existe une forme abortive avec un avortement qui survient sans aucun signe avant-coureur et généralement dans le dernier tiers de la gestation. Parfois le poulain naît à terme mais meurt rapidement à cause de difficultés respiratoires. A noter que l'HVE-1 est la première cause d'avortement d'origine virale chez le cheval [5]. Enfin, il existe une forme neurologique associée au type 1, appelé Myéloencéphalopathie équine à herpèsvirus (MEH) qui se caractérise par de l'ataxie, une parésie avec flaccidité de la queue voire une paralysie, et une incontinence urinaire [6]. Cette dernière forme peut s'avérer grave et conduire à l'euthanasie de l'animal dans des cas extrêmes.

Ainsi, la rhinopneumonie est une maladie infectieuse importante de par son fort impact sur la santé mais aussi sur l'économie du cheval (estimée à près de 5 millions d'euros lors de l'épidémie de 2018). Avec sa forte contagiosité et sa capacité à se propager de façon directe (contact nez à nez) mais également indirecte (via les fournitures, l'eau, les particules dans l'air...)[7], les rassemblements sont des situations à risque de développer une épidémie de rhinopneumonie. Afin de protéger les chevaux, il est nécessaire de mettre des éléments de biosécurité en amont et de vacciner les chevaux. Pour gérer une épidémie, il est nécessaire de mettre en place une gestion des chevaux, des locaux, un dépistage par PCR et également des traitements médicaux.

Le CES Valencia Spring Tour 2021 en Espagne, est un évènement qui réunissait près de 800 chevaux pour une compétition de saut d'obstacle pendant plus de 3 semaines, du 28 janvier au 21 février 2021. Cette compétition est devenue le lieu d'une émergence de cas de formes nerveuses d'HVE-1, et fût interrompue le 21 février. La rhinopneumonie étant une maladie à déclaration obligatoire en Espagne, un blocage du site avec mise en quarantaine des chevaux présents a pris effet le 22 février.

Le Dr COUROUCÉ, en collaboration avec le RESPE, BIOTARGEN, LABÉO ainsi que des confrères, a mené une étude épidémiologique, clinique et diagnostique (PCR sur prélèvement nasopharyngés et sanguins) sur les 74 chevaux restés sur site [8]. Cette étude sera présentée ici sous forme de matériels et méthodes, résultats et discussion, et les conséquences pour les futurs évènements FEI seront également discutées.

Partie 1 – Contexte
réglementaire des
événements de la FEI (avant
l'épidémie)

La Fédération Équestre Internationale (FEI) est un acteur qui réunit les chevaux et leur cavalier autour des compétitions les plus prestigieuses (Jeux Olympiques, Paralympiques, Championnat du Monde) et les sélections associées. De ce fait, la FEI participe à la santé des chevaux en partenariat avec les autorités vétérinaires.

Il existe depuis de nombreuses années, un manuel qui répertorie les rôles des vétérinaires et les réglementations associées. La 15^{ème} et dernière édition date de Janvier 2023 mais ici nous tiendrons compte de l'édition 2018 avec les adjonctions datant de janvier 2021, qui était l'édition en vigueur lors du CES de Valence [9]. Celle-ci apporte déjà de nombreuses indications quant aux mesures préventives des maladies infectieuses, à avoir sur le site d'une compétition.

1.1. Vaccination

Tous les chevaux entrant dans une écurie de la FEI et/ou participant à un évènement de la FEI, doivent être vacciné contre la grippe équine (Influenza Equin ou EI). La même règle s'applique aux chevaux entrant dans une écurie de la FEI mais ne faisant pas partie des chevaux en compétition. Le protocole est le suivant : une première injection (PV1) puis une seconde 21 à 92 jours après (PV2) et enfin une troisième dans les 7 mois qui suivent la deuxième injection (Booster). Par la suite, le rappel est annuel mais avec une obligation de rappel dans les 6 mois et 21 jours précédent une compétition FEI.

Néanmoins, dans la réglementation FEI, la vaccination contre la rhinopneumonie n'est pas obligatoire.

1.2. Installations

Lors d'un évènement FEI prenant place sur plusieurs jours, le comité d'organisation (CO) doit avoir prévu les installations suffisantes et en accord avec la réglementation de la FEI.

Pour commencer, les écuries doivent se composer de boxes d'au moins 3x3m avec un certain nombre de boxes plus large pour les chevaux de taille importante. Des boxes doivent également être prévu pour d'éventuels examens ou mise sous traitement. Il est aussi indispensable que le site accueillant une compétition, possède des boxes d'isolement en cas de suspicion d'infection chez un cheval. L'ensemble doit être nettoyé

et désinfecté avant l'arrivée des chevaux, et être équipé d'une bonne ventilation et d'espace suffisant entre les boxes.

Enfin, l'organisation doit prévoir une aire d'arrivée où les chevaux seront accueillis et examinés avant leur entrée dans les écuries. Cette zone doit être un passage obligé pour tous les chevaux entrant sur le site, qu'ils soient ou non participant aux compétitions.

1.3. Biosécurité

Ces installations doivent également respecter des mesures de biosécurité afin de prévenir l'apparition et la propagation de maladie infectieuse ; de bonnes pratiques de biosécurité qui devraient aussi être mise en place dans les écuries d'origine des chevaux et durant le transport de ces derniers.

Les écuries doivent être organisées de sorte à éviter les contacts directs (nez-à-nez) entre les chevaux, et être équipées de lave-mains et de gel hydroalcoolique pour permettre à chacun de se laver et de se désinfecter avant contact avec des chevaux différents.

Les boxes et les vans doivent être nettoyés et désinfectés avant l'arrivée des cavaliers et de leurs chevaux, et avant chaque utilisation par un nouveau cheval. De plus les abreuvoirs communs ne sont pas autorisés et il est recommandé d'utiliser des seaux individuels pour l'eau et la nourriture, qui eux aussi seront nettoyés et désinfectés s'ils venaient à être utilisés par un nouveau cheval.

Les équipements individuels tels que les licols, harnachements, longes, *etc...* doivent être propre à un unique cheval et ne devrait être partagé à moins d'avoir été préalablement désinfectés. La FEI propose d'utiliser un système d'identification du matériel pour éviter que ces accessoires ne soient échangés.

Bien évidemment la biosécurité ne passe pas seulement par des installations adaptées mais également par un bon encadrement vétérinaire.

1.4. Contrôles vétérinaires

Lors de leur arrivée sur le site d'une compétition FEI, les chevaux et leur cavalier doivent passer par la zone de contrôle vétérinaire afin que l'équipe de vétérinaire puisse procéder à la vérification de l'identité du cheval, de ses vaccins et vérifier l'absence de

signes cliniques en faveur d'une maladie infectieuse. Ce contrôle peut inclure un examen clinique complet, si le vétérinaire le juge nécessaire, avec prise de la fréquence cardiaque et respiratoire, température rectale et autres paramètres. Aucun cheval ne doit entrer dans les écuries avant de passer par cette zone.

Tout cheval n'étant pas correctement vacciné ou dont le passeport n'est pas fourni, se verra refuser l'entrée des écuries et devra être mis à l'isolement. De même un cheval avec le moindre symptôme de maladie ou ayant été en contact avec un cheval malade, doit être placé dans un box de quarantaine, jusqu'à rétablissement ou jusqu'à ce qu'une autre solution soit trouvée.

Autrement dit, à la moindre anomalie lors du contrôle d'un cheval (vaccination non à jour, identification incorrecte, examen clinique douteux), ce dernier se verra refuser l'entrée dans les écuries.

Ensuite, il est recommandé, tout au long de l'évènement, de procéder à une prise quotidienne de la température rectale des chevaux. Toute augmentation de température ou changement d'état clinique doit être rapporté aux vétérinaires, et le cheval mis en quarantaine dans un box d'isolement.

Enfin, les chevaux ne sont pas autorisés à quitter le lieu de la compétition tant que celle-ci est en cours, sauf autorisation exceptionnelle accordée par un vétérinaire.

1.5. Procédures d'urgence

Un cheval suspect de développer une maladie infectieuse quelle qu'elle soit, doit être rapporté à la commission vétérinaire de l'évènement et au département vétérinaire de la FEI. Le cheval devra être immédiatement placé en quarantaine dans les boxes prévus à cet effet et les mesures de biosécurité nécessaire devront être mises en place.

Tous les examens nécessaires pour déterminer la cause des symptômes, devront être entrepris et les résultats transmis aux vétérinaires de l'évènement et au département vétérinaire de la FEI. Si une maladie infectieuse venait à être confirmée, la situation devra être encadrée par les vétérinaires sur site et les mesures de biosécurité, du plan de contingence, devront être mises en place pour éviter toute propagation. Le plan d'urgence indique comment réorganiser les écuries pour obtenir des boxes d'isolement

supplémentaires mais aussi le protocole à suivre pour séparer les chevaux symptomatiques des autres.

Partie 2 – Matériels et méthodes

2.1. Chevaux et conditions d'hébergement

Le CES Valencia Spring Tour 2021 en Espagne, a accueilli 752 chevaux de saut d'obstacle provenant de 34 nations, sur 4 semaines de compétition à raison de 5 à 9 épreuves par jour, et entre 10 à 89 chevaux partant par épreuve.

Le site de la compétition comprenait plusieurs arènes extérieures, 2 pour l'entraînement et 3 pour la compétition dont une pour l'échauffement, et une arène intérieure (Figure 1).



FIGURE 1 : PLAN DU SITE DE LA COMPETITION. CREDIT IMAGE WWW.CESVALENCIATOUR.COM.

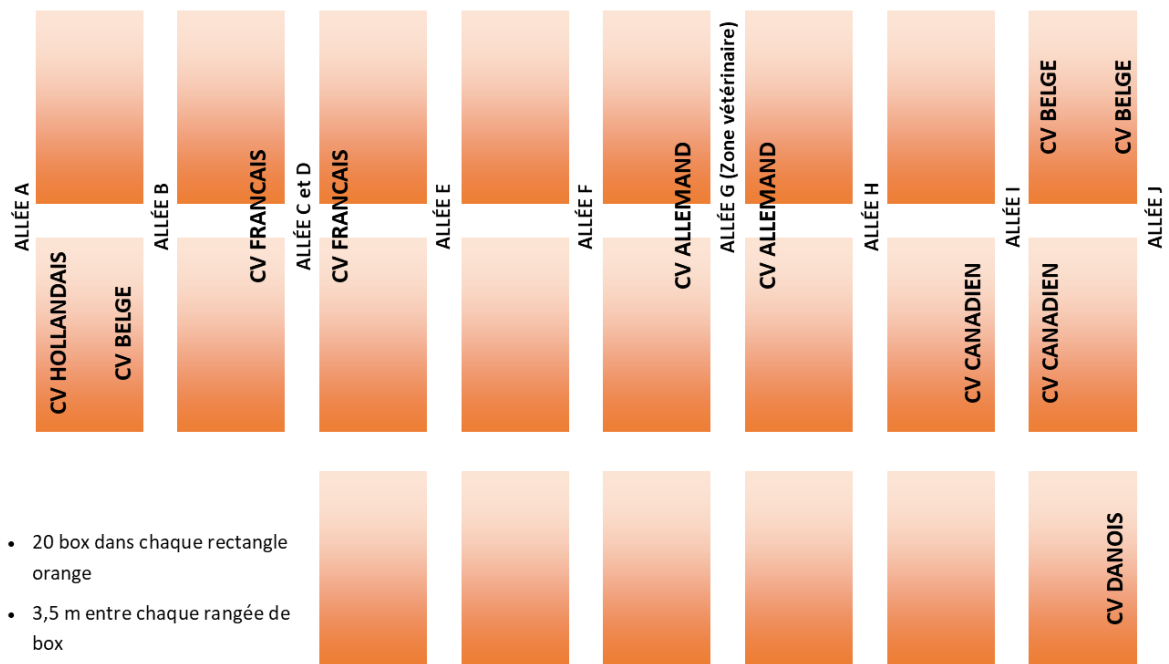
Sur ce plan, il n'est indiqué aucune zone prévue pour les contrôles à l'arrivée, ni de box d'isolement comme cela est normalement exigé dans le règlement de la FEI. De même, dans l'article 1031 des Vet Regulations [9], il y est exigé qu'à leur arrivée, les chevaux en compétition doivent subir une vérification de leur identité (passeport et lecture de puce) et vaccination (passeport), ainsi qu'un examen clinique complet et un relevé de la température rectale, de la part de l'équipe vétérinaire. Pourtant dans le cas du CES Valencia Spring Tour, il n'est nul part fait mention de ce contrôle vétérinaire et aucune recommandation n'a été donnée quant au contrôle quotidien de la température, là encore comme indiqué par les Vet Regulations dans l'article 1029.

Durant la compétition, mais également durant la gestion de l'épidémie, les chevaux étaient installés sous une grande tente aménagée avec des boxes temporaires de 3x3m (Figure 2). Sous cette tente (nommée E7 sur la Figure 1), on comptait 4 rangées de 20 boxes et 12 rangées de 30 boxes, soit 20 boxes par bloc séparés de 3,5 mètres, le tout pour un total de 440 boxes temporaires (Figure 3).



FIGURE 2 : POSITION DES BOX DANS LES TENTES. ENVIRON 3,5 M ENTRE DEUX RANGEES DE BOX. CREDIT PHOTO ANNE COUROUCÉ.

Plusieurs points d'organisation de cette compétition ne suivaient pas les consignes de biosécurité normalement en vigueur. Aucune ventilation n'était présente sous cette tente, seules des ouvertures sur les côtés permettaient de l'aérer (Figure 4). Aucun sens de circulation permettant d'éviter les croisements et contact répétés entre les chevaux, aucune installation permettant aux individus de se laver/désinfecter les mains, les équipements n'étaient pas toujours individuels, et lorsque partagés, ils n'étaient pas systématiquement désinfectés. Enfin, il est à noter que des chiens pouvaient circuler sans limite à travers l'ensemble du site.



VANS

FIGURE 3 : POSITION DES BOXES SUR LE SITE DE QUARANTAINE AVEC EMPLACEMENT DES DIFFERENTS CHEVAUX. CREDIT ANNE COUROUCÉ.



FIGURE 4 : OUVERTURE DE LA TENTE PERMETTANT L'AERATION. CREDIT PHOTO ANNE COUROUCÉ.

Une fois l'épidémie débutée et le site mis en quarantaine, des chevaux ont été déplacé, dans des écuries en dehors du site, dans les hôpitaux de Valence et Barcelone pour les cas les plus critiques, ou encore dans des boxes permanents (nommée E2 sur la Figure 1 ; Figure 5).



FIGURE 5 : BOX PERMANENTS EN E2 SUR LA FIGURE 1. CREDIT PHOTO WWW.CESVALENCIATOUR.COM.

Au total, 160 chevaux sont restés sur le site de la compétition, une fois ce dernier bloqué. Le Dr Anne COUROUCÉ en partenariat avec le RESPE, le LABÉO ainsi que les Docteurs Vétérinaires Rita POMARES, Jérôme THÉVENOT et Caroline TESSIER, a réalisé un suivi clinique et diagnostique des chevaux sur site pour aider les cavaliers et propriétaires à gérer l'épidémie. Ce suivi a donné lieu à une étude épidémiologique en accord avec les cavaliers et propriétaires de 74 chevaux qui se sont portés volontaires. Ainsi les données épidémiologiques, cliniques et diagnostiques de ces chevaux ont été enregistrées tout au long de l'épidémie, par les cavaliers, les propriétaires et les équipes vétérinaires sur place.

2.2. Chronologie et mouvement des chevaux

C'est le 20 février 2021 que la délégation vétérinaire de la FEI, présente au CES, a informé pour la première fois, le département vétérinaire de la FEI, que 11 chevaux présentaient de la fièvre. Dans la journée, 9 chevaux supplémentaires ont développé de

la fièvre, et un cheval a été transféré vers l'hôpital équin de Valence, en raison de symptômes neurologiques. Au vue de ces chevaux malades et de 4 cas positifs à l'HVE-1 en France sur des chevaux de retour de Valence, la FEI a demandé l'interruption immédiate de l'évènement.

Pourtant le 21 février 2021, l'organisation du CES a tenté de poursuivre la compétition avec notamment le Grand Prix. La FEI a mis en garde l'organisation contre des actions disciplinaires si l'épreuve n'était pas interrompue. Ainsi les 15 chevaux restant à concourir n'ont pu terminer l'épreuve. Ce jour-là, 40 chevaux de plus ont déclaré de la fièvre.

La rhinopneumonie étant une maladie réglementée à déclaration obligatoire en Espagne, le lundi 22 février 2021, les autorités locales ont verrouillé le site, empêchant tous les chevaux de sortir du site.

Bien que les actions et l'implication de la FEI n'a pris place qu'à partir du 20 février 2021, des indices portent à croire que l'HVE-1 était présent dès la première semaine de la compétition. En effet, d'importantes quantités de VALACYCLOVIR ND, un antiviral utilisable comme traitement pour le COVID-19 chez l'Homme mais également pour les herpèsvirus chez le cheval, ont été demandées au médecin du concours par une groom.

Par la suite, le dimanche 14 février, le cavalier Guillaume BATILLAT s'est rendu compte que l'un de ses chevaux, B., 15 ans, présentait de la fièvre et de l'abattement. Après un traitement anti-inflammatoire, le lendemain ce cheval ne présentait plus de fièvre mais a développé un engorgement des membres. Le même cavalier, a vu une autre de ses juments présenter de la fièvre le 16 février et a demandé la réalisation d'un test pour la rhinopneumonie sur cette dernière. Le test sera réalisé le 18 février et reviendra négatif. En parallèle, des cavaliers présents à Valence ont été prévenus par une cavalière rentrée en France, que 4 de ses chevaux étaient malades et positifs à HVE-1, dont au moins un avec des signes neurologiques. Cette information ne sera pas fournie à la FEI avant le 20 février 2021.

Le 17 février, la jument de Guillaume BATILLAT présentait, en plus de la fièvre, des difficultés locomotrices jusqu'à l'incapacité de sortir de son box le lendemain. Au total, 4 chevaux présentaient de la fièvre ce jour-là.

Les 19, 20 et 21 février, autrement dit avant la mise en quarantaine du site par les autorités locales, 131 chevaux de 11 pays, ont eu le temps de quitter le site, et ce, sans les autorisations requises.

Le 22 février, jour de la fermeture du site, la FEI a répertorié l'ensemble des chevaux présent à Valence entre le 1^{er} et le 20 février 2021, et les a bloqué dans leur base de données ; ces chevaux n'étaient plus autorisés à participer à un évènement de la FEI tant qu'ils n'étaient pas testés pour HVE-1. Ce jour-là, sur les 160 chevaux restés sur place, 52 chevaux symptomatiques ont été testés pour la rhinopneumonie, dont 17 reviendront positifs pour HVE-1. A ce stade, aucune mesure exceptionnelle de biosécurité n'est mise en place, si ce n'est une désinfection des véhicules à l'entrée du site.

Le 23 février, les chevaux « sains », présentant un examen clinique normal et une température dans les normes, ont été transférés dans les écuries permanentes (Figure 5). Aucun test HVE-1 n'a été réalisé sur ces chevaux, avant leur transfert.

Des signes neurologiques sont venus s'ajouter au tableau clinique **à partir du 25 février**. Cette forme neurologique se traduisait par de la faiblesse et de l'ataxie principalement postérieure, une perte de tonus au niveau de la queue et enfin une atonie vésicale. Durant plusieurs semaines, l'ensemble des chevaux ont été suivis par seulement deux vétérinaires Espagnols.

Le 26 février, plusieurs chevaux avec des signes neurologiques ont été transférés dans des cliniques extérieures, notamment l'université de Valence et de Barcelone, et 7 chevaux anglais asymptomatiques, dans une écurie à 10 km du site de la compétition. Un premier décès, à l'hôpital de Valence, a été rapporté aux autorités de la FEI.

Le 27 février, un second décès est rapporté à la FEI, ayant également eu lieu à la clinique équine de Valence. Le même jour, des vétérinaires espagnols de l'hôpital de Valence ont été envoyés sur le site du CES afin de mettre en place une unité de soins intensifs.

Le dimanche 28 février, 2 juments sont mortes mais cette fois-ci sur le site du CES ; le nombre de morts avait ainsi atteint 4. En réponse à la gravité de la situation, l'hôpital équin de Valence pris la décision de transférer tous les cas ne se rapportant pas à la rhinopneumonie vers d'autres cliniques afin d'augmenter sa capacité d'accueil pour les

chevaux victimes de l'épidémie. Le lendemain, les cas « critiques » ont été transférés vers l'université de Valence dont la nouvelle capacité d'accueil avait atteint 18 chevaux (soit 16 places de plus que la capacité « normale » d'isolement).

A ce stade, 2 nouveaux foyers de rhinopneumonie avaient été rapportés à la FEI et considéré comme en lien avec le foyer de Valence (Belgique et Allemagne). La FEI a alors pris la décision d'annuler toutes les compétitions en Europe du moins, et ce jusqu'au 28 mars.

Des renforts vétérinaires ont progressivement été envoyés sur le site par diverses Fédérations Européennes. Ainsi 2 vétérinaires allemands ont rejoint l'équipe vétérinaire le 28 février, et le 2 mars, une vétérinaire française, Dr Anne COUROUCÉ, spécialiste en médecine interne. A son arrivée, le Dr COUROUCÉ a constaté que des zones avaient été mises en place pour séparer les chevaux sains et malades, mais celles-ci semblaient assez peu efficaces. La zone « verte », correspondant aux boxes permanents, ne devaient accueillir que des chevaux sains pour les écarter des chevaux malades et stopper la circulation du virus sur le site. Pourtant des chevaux fiévreux étaient présents dans cette zone, aucune mesure de biosécurité n'était mise en place : pas d'équipement individuel (blouse, gants, charlotte, surbottes) permettant de se protéger lors des contacts avec les chevaux malades, pas de pédiluve, et enfin, aucune gestion de la circulation n'avait été mise en place pour limiter les entrées et sorties, et notamment les passages entre zone d'isolement et zones « vertes » ; tout le monde circulait sans restriction.

Le 3 mars, 2 morts supplémentaires ont été rapportées : un cheval hospitalisé à Barcelone, et un autre rentré en Allemagne ; atteignant ainsi le nombre de 6 morts liés à cette épidémie. Sur le site, 4 chevaux de Guillaume BATILLAT ont été transférés dans une nouvelle zone isolée (rectangle orange sur la Figure 1 ; Figure 6) puisqu'ils ne présentaient plus de fièvre, ni aucun autre signe depuis plusieurs jours. Ce jour-là un premier échantillonnage a été réalisé sur 21 chevaux, d'une part prélevés par les vétérinaires français avec des écouvillons nasopharyngés et d'autre part prélevés par les vétérinaires espagnols avec des écouvillons nasaux et des prises de sang.

Le 4 mars, à nouveau 2 morts supplémentaires ont été rapportées à la FEI : une en Allemagne et l'autre à Barcelone. Le lendemain la clinique de Valence rapporte

également un nouveau décès, portant ainsi le nombre officiel de mort lié au CES de Valence, à 9 morts.



FIGURE 6 : BOXES TEMPORAIRES ET ELOIGNES DE LA GRANDE TENTE, DANS LESQUELS ONT ETE PLACES LES 4 CHEVAUX DE GUILLAUME BATILLAT A PARTIR DU 3 MARS. CREDIT PHOTO ANNE COUROUCÉ.

Patrick Borg, *stable manager* sur de nombreux concours (Jeux Olympiques de Rio), et son équipe, ont été mandatés par la Fédération Française d'Équitation (FFE) pour prêter main forte aux équipes françaises dans la gestion de l'épidémie. Grâce à son expertise et son expérience, de nouvelles mesures de biosécurité ont été mises en place à compter du 6 mars. Notamment des zones avec pédiluves pour les hommes et les chevaux (Figure 7), un système de bracelets de couleur pour gérer la circulation, ainsi qu'un nettoyage et une désinfection des camions et des équipements pour éviter de nouvelles propagations. Ce jour-là, un second échantillonnage a été réalisé sur 43 chevaux.

Les 8 et 9 mars, 2 nouvelles morts étaient à déplorer à la clinique de Valence, augmentant le nombre de mort à 11.

Les équipes françaises souhaitant rapidement rapatrier leurs chevaux en France, entre le 2 et le 10 mars, un protocole sanitaire a été établi par les autorités françaises et soumis au gouvernement Espagnol : trois tests PCR négatifs à une semaine d'intervalle pour pouvoir sortir de la période de quarantaine ainsi qu'un examen clinique complet garantissant qu'ils ne présentaient ni fièvre, ni toux, ni ataxie. Les premiers

rapatriements d'Espagne vers la France ont commencé le 11 mars, avec une mise en quarantaine au Parc Equestre Fédéral de la FFE à Lamotte-Beuvron. Le 11 mars, un premier trajet a permis de rapatrier 10 chevaux, un deuxième le 18 mars a permis d'en ramener 11 de plus, et enfin, le 25 mars les 2 derniers chevaux français ont pu rentrer. Seule, une jument est restée sur place jusqu'à fin mars car atteinte de fourbure.



FIGURE 7 : MISE EN PLACE DE PRODUITS DESINFECTANTS SUR DES TAPIS « COCO » A L'ENTREE DES ECURIES POUR QUE LES CAVALIERS/GROOMS ET CHEVAUX PASSENT DESSUS. CREDIT PHOTO ANNE COUROUCÉ.

Les autres pays ont fait de même et le site du CES de Valence s'est progressivement vidé entre le 12 et 31 mars, y compris les chevaux hospitalisés à la clinique équine de Valence, qui, étant stables, ont pu repartir dans leur pays respectif.

A la fin du mois de mars, le nombre total de mort rapporté avait atteint 18, comprenant des morts et euthanasies sur site et dans les hôpitaux de Valence et Barcelone (11 au total), mais également des morts en Belgique (2) et en Allemagne (5 dont un poulain mort-né).

En parallèle de l'épidémie gérée sur place, au CES de Valence, plusieurs autres foyers, en lien avec celui-ci, se sont déclarés à travers le monde : en Espagne, en Belgique, en Allemagne, au Qatar... La FEI a ainsi prolongé l'annulation des divers événements, jusqu'au 11 avril, annulant ainsi les finales de la FEI World Cup™.

2.3. Tests diagnostics

Lors de l'épidémie du CES Valencia Spring Tour 2021, les chevaux présents sur le site ont été suivis à la fois cliniquement mais également *via* des tests PCR réguliers.

Parmi les 74 chevaux suivis, dont les propriétaires étaient volontaires pour participer à l'étude épidémiologique, certains n'étant pas sur place mais hospitalisés à Barcelone ou à Valence, ils n'ont pu être prélevés avec des écouvillons nasopharyngés. De plus, les données cliniques sont manquantes pour un certain nombre de chevaux Allemands d'une même écurie, et n'ont donc pu être maintenus dans l'étude. Au final, la population étudiée se compose de 60 chevaux, par rapport aux 160 chevaux bloqués sur le site et aux 752 chevaux au départ de la compétition.

Le partenaire de cette étude pour le suivi analytique, a été le laboratoire d'analyse et de recherche LABÉO Frank DUNCOMBE situé à Caen (France). Ce laboratoire a effectué des analyses PCR et isolement de virus sur des écouvillons nasopharyngés placés dans une solution saline à 0,9 % et envoyé *via* FedEx. Un premier échantillonnage a été réalisé le 3 mars sur 21 chevaux (32,8 %) et un second le 6 mars sur 43 chevaux (67,2 %). Le 3 mars, sur les 21 chevaux, l'équipe de vétérinaires français a réalisé des prélèvements nasopharyngés (écouvillon de 40 cm de long) à destination du LABÉO, alors que l'équipe de vétérinaires espagnols a prélevé des écouvillons nasaux (écouvillon de 12 cm de long) et réalisé également des prélèvements de sang sur tube EDTA, le tout à destination du laboratoire national situé à Madrid.

Le diagnostic PCR du LABEO a été réalisé tel que décrit par Sutton *et al.* (2020). Les écouvillons ont été placés dans une solution saline à 0,9 %. Les acides nucléiques ont été extrait des écouvillons et de culture du surnageant, à l'aide du kit d'extraction QIAmp® Viral RNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Allemagne) selon les recommandations du fabricant [10]. Une réaction en chaîne par polymérase en temps réelle (qPCR) a été menée sur les acides nucléiques purifiés pour détecter et quantifier la glycoprotéine B de l'HVE-1 (gB), en employant les amorces et les sonde de Diallo *et al.* (2006) [11]. TaqMan Universal PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) a été utilisé pour la PCR. La sensibilité du test PCR est 108 copies/ μ L d'extrait d'acides nucléiques et la spécificité est de 100 % après amplification de différents HVE (HVE-2, HVE-3, HVE-4, HVE-5 et HVE-9), d'autres virus respiratoires (Artérite virale équine,

influenza équine) et bactéries. Une deuxième PCR en temps réel a été réalisée à l'aide d'amorces et de sondes d'Allen *et al.* (2007) typées pour l'ORF30 A/G₂₂₅₄. De même que pour la première PCR, le TaqMan Universal PCR Master Mix a été utilisé [10].

Les souches d'intérêt ont également été étudiées par typage par séquençage (MLST : MultiLocus Sequencing Typing) réalisé comme décrit par Garvey *et al.* (2019) [12].

Enfin l'ADN viral a été isolé à partir d'une mise en culture cellulaire. Des cellules de reins de lapin (RK13) ont été inoculées avec 500 µL de surnageant provenant des écouvillons nasopharyngés mis en solution saline, et mises en culture durant 6 jours. La souche d'HVE-1 isolée a été amplifiée et de nouveau inoculée à des cellules RK13, puis mise en culture pour à nouveau 6 jours [10].

Bien que le laboratoire d'Etat Espagnol n'utilise pas la même méthode de prélèvement et probablement des protocoles d'analyses différents, les résultats obtenus ont été comparés à ceux du LABÉO.

2.4. Analyses statistiques

Un traitement statistique a été réalisé sur les données récupérées lors de cette épidémie afin d'en extraire des tendances et des facteurs de risque, pour mieux comprendre le fonctionnement de la rhinopneumonie. Le but était de partir de la population de 60 chevaux pour lesquelles toutes les caractéristiques et données épidémiologiques sont disponibles puis de les rapporter à la population de 160 chevaux présente sur le site et ayant vécu l'épidémie dans les mêmes conditions, et enfin de l'extrapoler aux 752 chevaux ayant participé à la compétition. En rapportant à la plus large population possible, on pourra conclure ou non à la représentativité des résultats obtenus sur la population étudiée de 60 chevaux.

Les données qualitatives, telles que le sexe, la nation d'origine, le statut vaccinal, ont été comparées entre la population étudiée, celle sur site et la totale ayant participé à la compétition afin d'évaluer la représentativité de nos résultats à l'aide du test Chi 2. Ces données ont été décrites en termes de distribution et de fréquences.

Les données quantitatives, telles que l'âge ou la durée écoulée entre la dernière vaccination et le début de la compétition, contrairement aux données catégorielles, ne suivent pas une loi normale d'après le test de normalité de Shapiro-Wilk ($p = 0,0006$).

Ainsi, elles ont été comparées entre les trois populations, et leur représentativité a été évaluée à l'aide du test de Kruskal-Wallis. Ces données ont été décrites en termes d'extrêmes, de moyenne (m) et d'écart-type, mais aussi en terme de médiane (Me) et d'interquartile (EI).

A l'aide de régression logistique, de potentiels facteurs de risque ont été étudiés tels que l'âge, le sexe, la durée de la fièvre, l'emplacement dans la tente, et les résultats des tests PCR. Le seul facteur qui n'a pas été étudié est celui du statut vaccinal, qui n'aurait pas été représentatif aux vues de la répartition déséquilibrée entre le groupe témoins et les groupes de chevaux malades.

Ces facteurs de risque potentiels ont été examinés selon deux critères de jugements : les chevaux sains et les chevaux fiévreux, avec ou sans signes neurologiques. Trois modèles de régression logistiques ont été employés :

- Le premier, univarié pour comparer les témoins sains et les chevaux ayant présenté des signes cliniques ;
- Le second, multivarié pour comparer les témoins sains avec les chevaux n'ayant présentés que de la fièvre (1), et les chevaux ayant présenté de la fièvre et des signes neurologiques (2) ;
- Enfin, le dernier, ordinal de catégorie adjacente pour les témoins avec seulement les chevaux fébriles (1), et les chevaux fébriles seulement avec les individus ayant présenté des symptômes neurologiques (2).

Dans les modèles logistiques, la classification des variables continues a été réalisée en fonction de la valeur médiane pour l'âge et de la valeur moyenne pour la durée de la fièvre. Pour les variables catégorielles, certaines catégories ont été fusionnées de façon biologiquement pertinente alors que d'autres ont été éliminées car estimées non pertinentes.

Pour l'ensemble des variables, les *Odds Ratio* (OR) ont été calculés afin de déterminer le lien entre une variable et le risque de développer la maladie. Les p-value ont permis de déterminer si ces résultats peuvent être considérés comme significatifs ; toutes variables associées à une $p \leq 0,05$, ont été considérées comme significatives.

L'analyse des facteurs de risque a été réalisée à l'aide du logiciel R, version 4.0.3 (équipe R Core). La modélisation de régression logistique ordinaire de catégorie adjacente a été réalisée à l'aide du package `brglm2` (Kosmidis, 2021).

Par ailleurs, les résultats de la PCR obtenus par les méthodes françaises ont été comparés avec les résultats obtenus par les méthodes espagnoles en calculant le coefficient Kappa et le pourcentage d'accord à l'aide de la méthode de Landis et Kock (1977) [13].

Partie 3 – Résultats

3.1. Chevaux

Les propriétaires et cavaliers de 74 chevaux ont accepté de participer à l'étude clinique, épidémiologique et diagnostique qui résulte de cette épidémie. Les caractéristiques de ces 74 chevaux ont été comparées à la population restée sur site (n = 160) et à la population totale ayant participé à la compétition (n = 752), afin de savoir si la population suivie était représentative de la population globale.

Lors de la compétition, 34 nations étaient représentées, mais parmi les 74 chevaux suivis, il ne restait que 8 nations : 22 chevaux de France (29,7 %) de 3 écuries différentes, 13 chevaux de Belgique (18,9 %) de 2 écuries différentes, 13 chevaux d'Allemagne (14,9 %) de 2 écuries différentes, 8 chevaux d'Angleterre (10,8 %) de 2 écuries différentes, 6 chevaux des Pays-Bas (9,4 %), 5 chevaux de République Sud-Africaine (6,8 %), 4 chevaux du Danemark (5,4 %), et enfin, 3 chevaux du Canada (4 %). La répartition complète entre les 8 nations, pour la population suivie, celle sur site et la population globale, est donnée dans le Tableau 1.

D'après l'analyse statistique, il n'y a pas de différence significative dans la répartition des nations, entre la population étudiée et la population sur site avec $p = 0,10$. Par contre, notre population étudiée est significativement différente de la population totale avec $p < 0,0001$. En effet, au départ plus de 30 pays différents sont présents alors que dans la population suivie, seuls 8 sont représentés.

TABLEAU 1 : REPARTITION DES NATIONS REPRESENTEES DANS LA POPULATION SUIVIE (N = 74), LA POPULATION SUR SITE (N = 160) ET LA POPULATION TOTALE AYANT PARTICIPE A LA COMPETITION (N = 752).

Population	France	Belgique	Allemagne	Angleterre	Pays-Bas	RSA*	Danemark	Canada
Suivie (n = 74)	22 (29,7 %)	13 (17,6 %)	13 (17,6 %)	8 (10,8 %)	6 (8,1 %)	5 (6,8 %)	4 (5,4 %)	3 (4,0 %)
Sur site (n = 160)	22 (13,8 %)	17 (10,6 %)	17 (10,6 %)	12 (7,5 %)	12 (7,5 %)	7 (4,4 %)	12 (7,5 %)	3 (1,9 %)
Totale (n = 752)	235 (31,3 %)	100 (13,3 %)	63 (8,4 %)	13 (1,7 %)	25 (3,3 %)	8 (1,1 %)	35 (4,7 %)	13 (1,7 %)

*RSA : République Sud-Africaine

La répartition des sexes parmi la population suivie (n = 74) est la suivante : 39 juments (52,7 %), 30 hongres (40,5 %) et 5 étalons (6,8 %). La répartition complète des sexes pour la population suivie, celle sur site et la population globale, est donnée dans le Tableau 2.

D'après l'analyse statistique, il n'y a pas de différence significative dans la répartition des sexes, entre la population étudiée et la population sur site avec $p = 0,19$. En revanche, il y a une différence significative entre notre population étudiée et la population totale avec $p = 0,04$.

TABLEAU 2 : REPARTITION DES SEXES DANS LA POPULATION SUIVIE (N = 74), LA POPULATION SUR SITE (N = 160) ET LA POPULATION TOTALE (N = 752).

Population	Juments	Hongres	Etalons
Suivie (n = 74)	39 (52,7 %)	30 (40,5 %)	5 (6,8 %)
Sur site (n = 160)	75 (46,9 %)	61 (38,1%)	24 (15,0 %)
Totale (n = 752)	314 (41,8 %)	305 (40,5 %)	133 (17,7 %)

L'âge médian, pour la population de 74 chevaux, était de 9 ans avec une répartition allant de 6 à 16 ans et un écart interquartile, EI = 3 ans. Pour la population sur site (n = 160) et la population totale (n = 752), l'âge médian était également de 9 ans, mais avec une répartition de 5 à 16 ans, et respectivement EI = 4,5 ans et 4 ans. Avec une p-value de 0,87 (test de Kruskal-Wallis), on peut considérer qu'il n'existe aucune différence significative entre notre population étudiée, la population sur place et la population totale ; entre la population étudiée et la population sur site pas de différence significative d'âge ($p = 0,10$) et aucune différence entre la population étudiée et la population totale.

Pour rappel, les données complètes (caractéristiques du cheval et suivi épidémiologique) n'ont pu être collectées que pour 60 chevaux sur 74. Ainsi pour la suite, on considèrera la population suivie comme composée de ces 60 chevaux.

3.2. Statut vaccinal

Dans la population suivie (n = 60), 27 chevaux n'étaient pas vaccinés contre HVE-1 (45 %). Parmi les chevaux vaccinés, 31 l'étaient tous les 6 mois, et 2 chevaux avaient un rappel à des intervalles de 7 ou 8 mois. La répartition complète des états de vaccination pour la population suivie et celle sur site, est donnée dans le Tableau 3 ; les informations concernant la population globale ne sont pas disponibles.

Les premières vaccinations remontent à 2011 pour les chevaux les plus âgés et à août 2020 pour les plus jeunes. Pour tous les chevaux vaccinés, le dernier rappel en date a été réalisé dans l'année précédant la compétition. La durée médiane entre la dernière vaccination et le début de la compétition était Me = 1 mois avec une répartition allant de 0 à 8 mois et EI = 2 mois (m = 1,7 ± 2,1 mois).

En termes de vaccins utilisés, avant 2017 divers vaccins ont été employés, notamment : Pneumabort-K® EHV1 (ZOETIS US), Duvaxyn® EHV-1,4 (ZOETIS), Pneumequine® EHV1 (MERIAL), Prevaccinol® EHV1 (INTERVET Deutschland) ou Bioequin H® (IPVET). En revanche au cours des dernières années, tous les chevaux ont été vaccinés avec de l'EQUIP® EHV 1,4 (ZOETIS).

TABLEAU 3 : STATUT VACCINAL AU SEIN DE LA POPULATION SUIVIE (N = 60) ET LA POPULATION SUR SITE (N = 160).

Population	Vaccinés	Non vaccinés	Statut inconnu
Suivie (n = 60)	33 (55,0 %)	27 (45,0 %)	0 (0 %)
Sur site (n = 160)	43 (26,9 %)	114 (71,2 %)	3 (1,9 %)

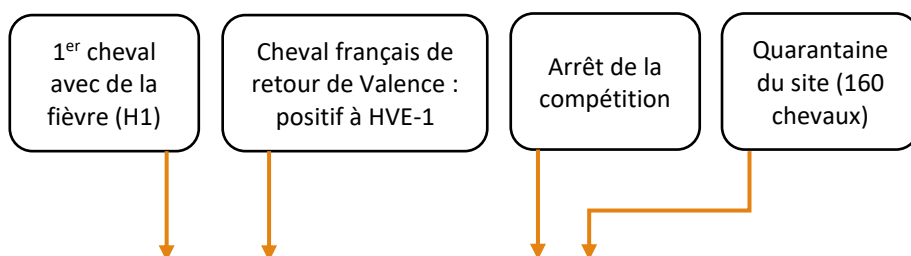
D'un point de vue statistique (p < 0,0001), on peut considérer qu'il y a une différence significative entre la population suivie (nombre de chevaux vaccinés supérieur au nombre de non vaccinés) et la population sur site (nombre de chevaux vaccinés inférieur au nombre de non vaccinés). Etant donné l'absence d'information sur l'ensemble de la population ayant participé à la compétition (n = 752), on ne peut savoir si la population étudiée est représentative de la population globale.

3.3. Chronologie

Le premier cheval à avoir eu de la fièvre (H1), sur le site de Valence, a été déclaré le 14 février. Ensuite, le 16 février, une cavalière française rentrée en France la semaine précédente, informa les cavaliers qu'un de ses chevaux présentait de la fièvre et avait été testé positif à HVE-1. Une semaine après, la compétition est interrompue et le site mis en quarantaine.

Les nouveaux cas et le nombre total de chevaux ayant présenté de la fièvre, des symptômes neurologiques, ont été suivis sur la période du 14 février au 6 mars (Tableau 4).

TABLEAU 4 : CHRONOLOGIE DES EVENEMENTS DE VALENCE : NOMBRE DE CHEVAUX HYPERTHERMES ET PRESENTANT DES SIGNES NEUROLOGIQUES (N = 60).



Mois	Février														Mars							
	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	1	2	3	4	5	6	
CV avec fièvre	1	0	1	1	1	5	5	6	8	3	5	3	3	2	2	3	0	0	1			
Total CV avec fièvre	1	1	2	3	4	9	14	20	28	31	36	39	42	44	46	49	49	49	50			
CV avec signes neurologiques							1	0	0	1	0	0	1	9	2	3	0	0	2	0	0	1
Total CV avec signes neurologiques							1	1	1	2	2	2	3	12	14	17	17	17	19	19	19	20

CV : Cheval

La première semaine, du 14 au 21 février 2021, le nombre de chevaux présentant de la fièvre a augmenté de 31,6 % en passant de 1 à 20 chevaux, et la deuxième semaine, du 21 au 27 février, l'augmentation était de 40 % en passant de 20 à 44 chevaux. Au total, sur les 60 chevaux suivis, 50 ont présenté de l'hyperthermie (83,3%), déterminée par

une température rectale supérieure à 38,5°C, et 20 ont développé des symptômes neurologiques.

Les premiers symptômes neurologiques n'apparaissent qu'environ 1 semaine après les premiers cas de fièvre (Figure 8). En effet, le nombre de jours entre le début des symptômes et l'apparition de signes neurologiques était compris entre 1 et 8 jours avec $m = 5,1 \pm 1,7$ jours.

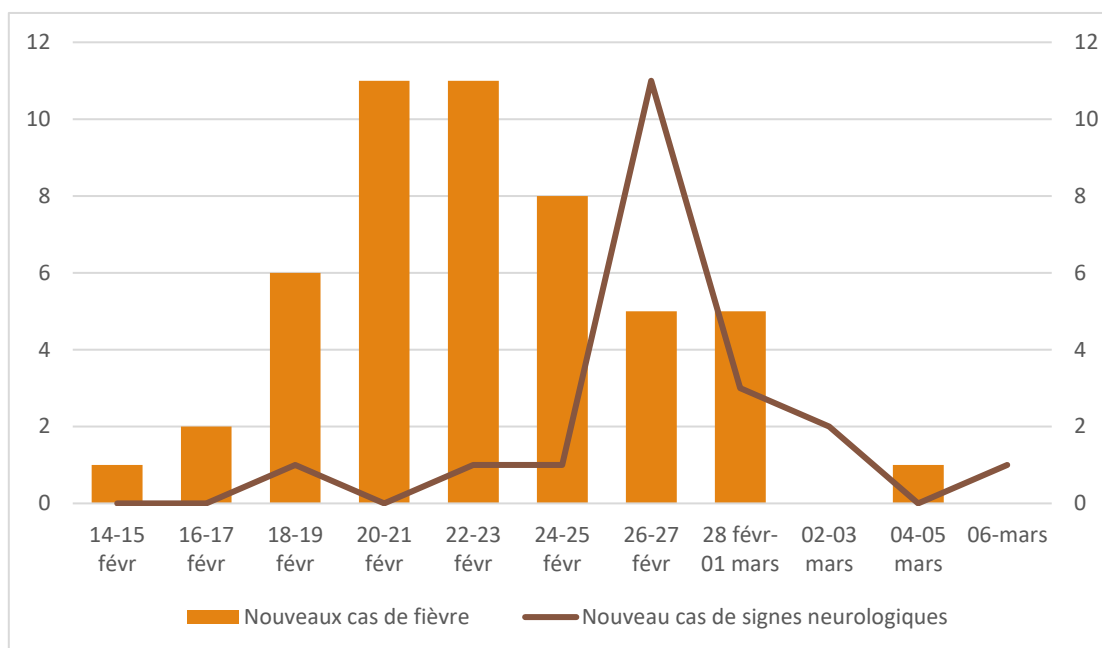


FIGURE 8 : DISTRIBUTION DES CAS DE FIEVRE ET DES CAS DE MEH AU COURS DE L'ÉPIDÉMIE DE VALENCE ; ENTRE LE 14 FÉVRIER ET LE 6 MARS.

3.4. Signes cliniques

Au cours de l'épidémie, les signes cliniques rencontrés étaient principalement de l'hyperthermie mais également des signes neurologiques, correspondant à une myéloencéphalopathie, avec de l'ataxie, une perte de tonus au niveau de la queue et de l'atonie vésicale.

Parmi les 60 chevaux de la population étudiée, 10 n'ont présenté aucun signe (16,7%). Au sein de ces derniers, 7 étaient des chevaux anglais déplacés du site le 26 février vers une écurie à 10 kilomètres. Pour les 50 chevaux avec hyperthermie, celle-ci a varié entre 38,6 et 41,2°C, et évolué pendant 1 à 10 jours avec une moyenne de $4,0 \pm 2,1$ jours (Figure 9).

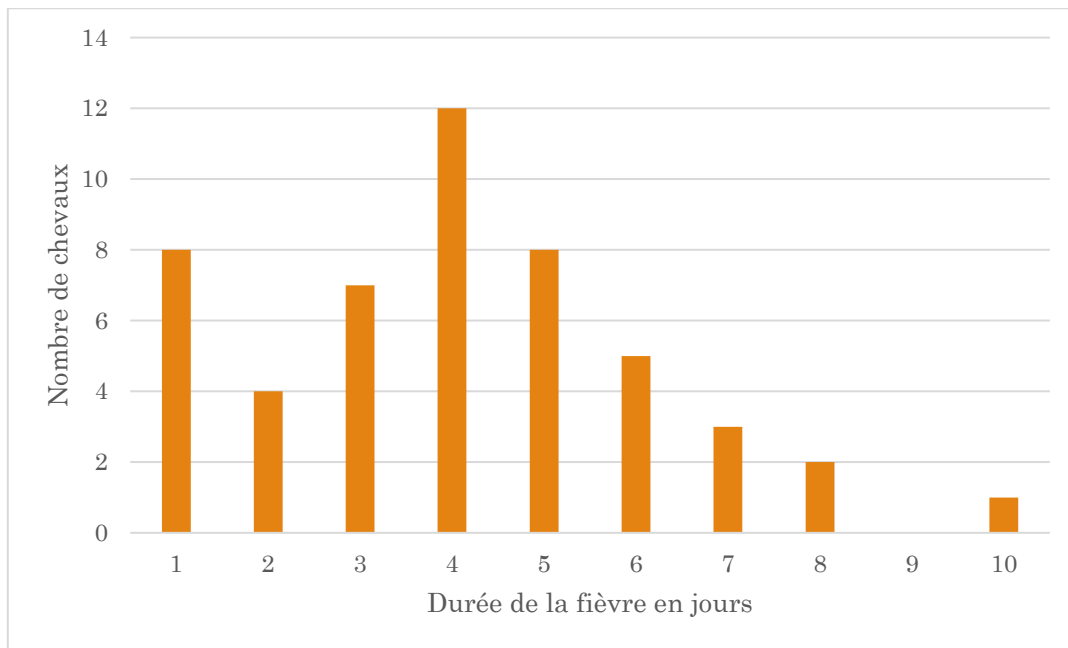


FIGURE 9 : DUREE DE LA FIEVRE (> 38,5°C) EN JOUR (N = 50/60)

Des signes neurologiques ont été exprimés chez 20 chevaux (40%) parmi les 50 malades, 1 à 5 jours après le dernier jour de fièvre, avec $m = 1,5 \pm 1,5$ jours (Me = 1 jour et EI = 1,3 jours). Les symptômes neurologiques étaient une flaccidité de la queue, une atonie vésicale et une ataxie. Les 3 signes n'étaient pas nécessairement tous présents chez tous les chevaux atteints de MEH (Figure 10).

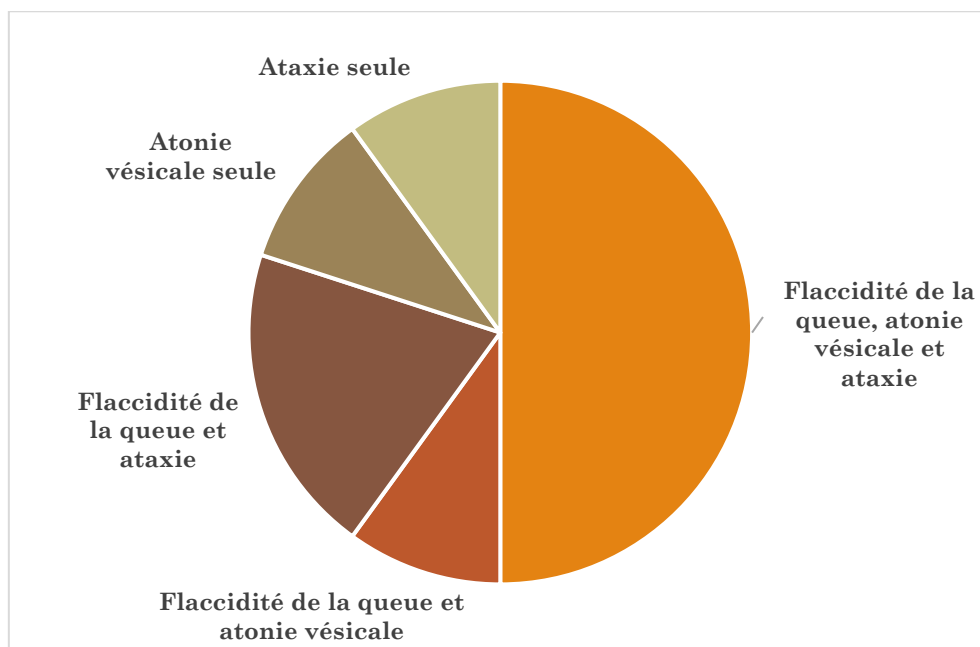


FIGURE 10 : PRESENTATION CLINIQUE DE LA FORME NEUROLOGIQUE DE L'HVE-1 CHEZ LES 20 CHEVAUX ATTEINTS

Parmi les 20 chevaux atteints de MEH, 6 ont été hospitalisés à l'université de Valence et 2 à l'université de Barcelone. Au cours de leur hospitalisation, tous les chevaux ont

été, au moins temporairement, en décubitus, dont 2 qui ont dû être soutenu pendant plusieurs jours à l'aide d'un harnais et 2 autres, incapables de se relever, sont morts. Un troisième cheval est mort d'une sévère fourbure après son retour à domicile.

D'autres signes cliniques ont été exprimés parmi les 24 chevaux français et canadiens :

- 6 chevaux ont présenté un second pic d'hyperthermie, dont 5 avec des signes de pneumonie bactérienne d'intensité variable, diagnostiquée par un examen clinique et une échographie pulmonaire ;
- 4 chevaux ont développé une fourbure et l'un d'eux a eu de la diarrhée en parallèle ;
- 2 chevaux ont eu une atteinte oculaire avec œdème et conjonctivite ;
- 1 cheval présentant une tachycardie a été hospitalisé à l'université de Valence afin d'explorer ce signe clinique, motivant la mesure de la troponine I, une échocardiographie et un ECG, qui ont permis de conclure à une myocardite. Ce même cheval a lui aussi développé une fourbure.

En définitive, lors de cette épidémie, la prévalence de MEH était de 40 %, la mortalité de 5 % et la morbidité de 15 %.

3.5. Vaccination et signes cliniques

La vaccination rhinopneumonie concernait 33 chevaux des 60 étudiés, dont 31 chevaux correctement vaccinés et avec un dernier rappel effectué dans les 6 mois précédant la compétition ; un seul d'entre eux n'a présenté aucun symptôme.

Sur les 30 chevaux vaccinés et ayant développé de la fièvre, 15 ont présentés des signes neurologiques (50 %) et 3 en sont morts (10 %). Les 2 chevaux, avec un rappel datant de plus de 6 mois, ont eu de la fièvre mais sans signes neurologiques. Concernant les 27 chevaux non vaccinés, 18 d'entre eux ont eu de la fièvre (66,7 %) et seulement 5 ont développé des signes neurologiques (27,8 %). L'ensemble de ces informations est réuni dans la Figure 11.

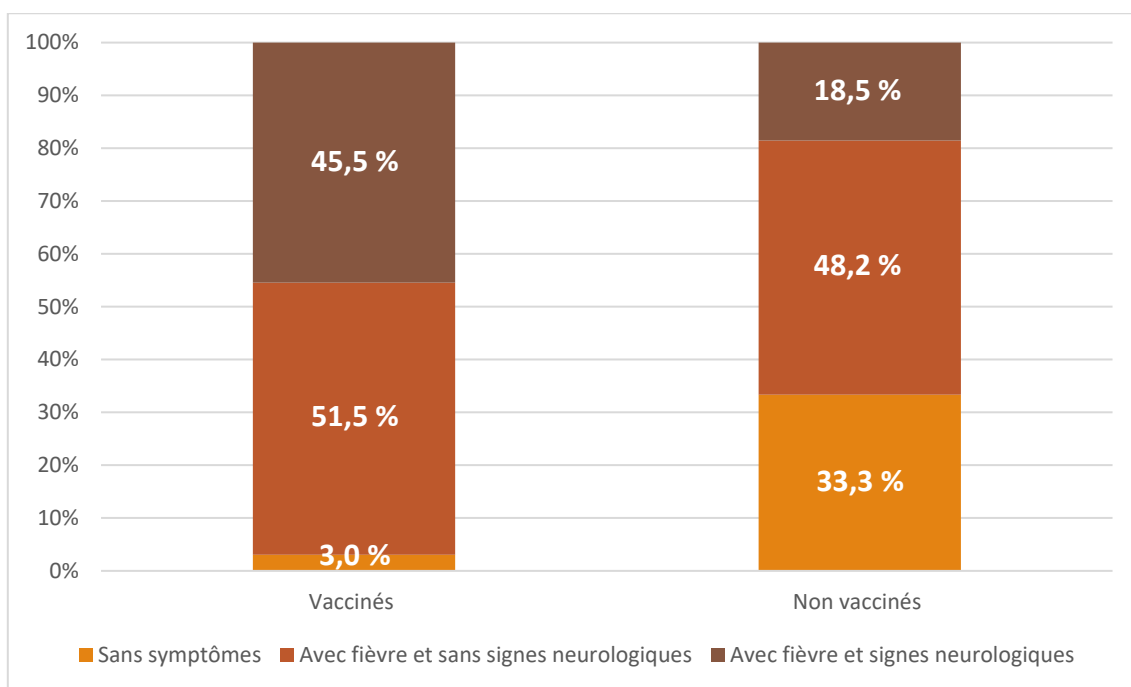


FIGURE 11 : PROPORTIONS DE CHEVAUX SANS OU AVEC FIEVRE, ET AVEC OU SANS SIGNES NEUROLOGIQUES ASSOCIES, SELON LE STATUT VACCINAL

A noter que parmi les chevaux anglais qui ont été déplacés sur un autre site, aucun n'était vacciné et aucun n'a développé de signes cliniques.

3.6. Facteurs de risque

Parmi les 60 chevaux étudiés, 10 chevaux ont été considérés comme témoins sains dans l'étude statistique sur les facteurs de risque. Les chevaux ayant développé de la fièvre, forment le groupe de cas malades. Ce groupe est subdivisé en 2 sous-groupes : d'un côté les 30 individus ayant uniquement eu un épisode fébrile et de l'autre les 20 ayant eu également des signes neurologiques.

3.6.1. Signes cliniques et sexe

Sur les 32 juments de la population suivie, 24 ont présenté de la fièvre (75,0 %) dont 12 avec signes neurologiques (50 %). Du côté des mâles, 22 hongres (91,7 %), parmi 24, ont présentés de la fièvre dont 7 avec signes neurologiques associés (40,9 %). Enfin, tous les étalons ont été symptomatiques mais seulement 1 d'entre eux a eu des signes neurologiques (25 %). L'ensemble de ces informations est réuni dans la Figure 12.

La durée moyenne de la fièvre était de $m = 4,3 \pm 2,2$ jours pour les juments, $m = 4,3 \pm 2,0$ jours pour les hongres et $m = 2,7 \pm 1,5$ jours pour les étalons.

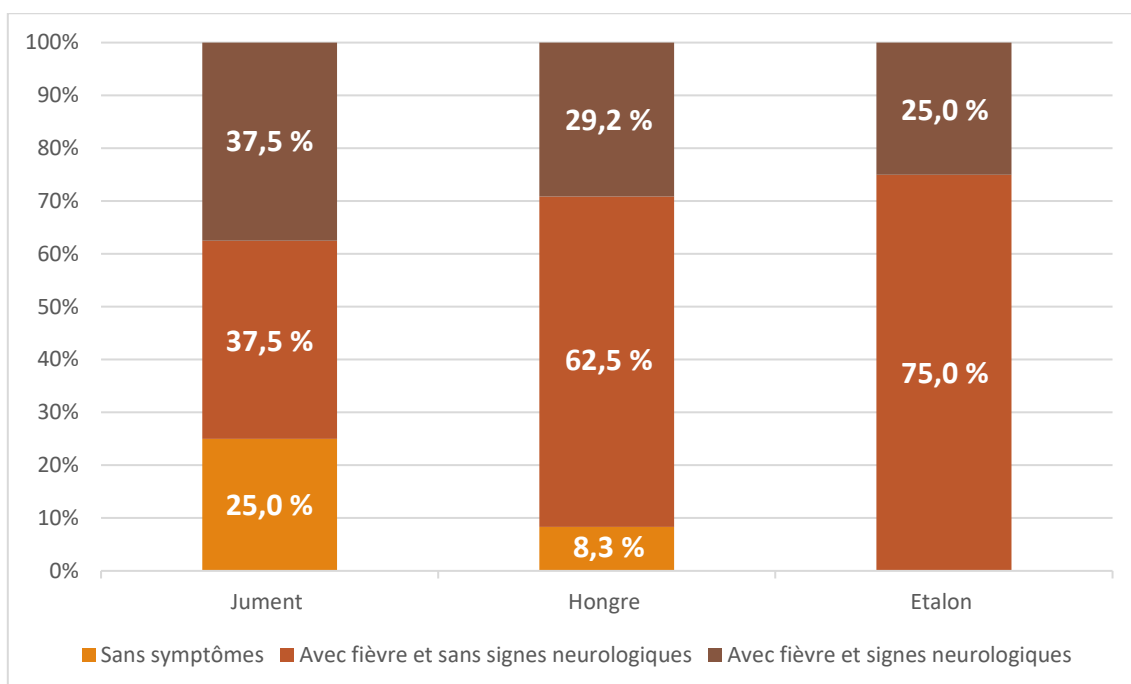


FIGURE 12 : PROPORTION DE CHEVAUX SANS OU AVEC FIEVRE, ET AVEC OU SANS SIGNES NEUROLOGIQUES, SELON LE SEXE.

En comparant les chevaux témoins et les chevaux malades, aucune différence ne ressort concernant le sexe (Tableau 5). Par contre, en comparant les témoins et les chevaux ne présentant que de la fièvre, il en ressort que les chevaux mâles (hongres et étalons confondus) présentaient un risque plus élevé de développer de la fièvre que les juments (Tableau 6).

TABLEAU 5 : FACTEURS POTENTIELLEMENT ASSOCIES AUX MANIFESTATIONS CLINIQUES. COMPARAISON DES TEMOINS ET DES CHEVAUX MALADES. REGRESSION LOGISTIQUE UNIVARIEE.

Facteurs	Cas (N = 50)	Témoins (N = 10)	OR	IC à 95 %	p-value
Sexe					
Etalon et hongre	26	2	4,3	0,8 – 22,5	0,08
Jument	24	8			
Age					
> 9 ans	25	2	4,0	0,8 – 20,7	0,10
≤ 9 ans	25	8			
Emplacement					
A l'intérieur	31	2	6,5	1,3 – 34,0	0,03
A l'extérieur/sur les côtés	19	8			
Test PCR sur ENP					
Positif	23	2	4,4	0,8 – 23,0	0,08
Négatif	21	8			

OR = Odd Ratio et IC = Intervalle de Confiance. ENP = Ecouvillon Nasopharyngé

Enfin, lors de cette épidémie, 3 chevaux sont morts sur les 60 suivis : 2 juments, et 1 hongre euthanasié pour une sévère fourbure une fois de retour en France. A noter que 3 autres juments sont mortes parmi les 14 chevaux dont le suivi n'a pas été complet.

3.6.2. Signes cliniques et âge

Pour le facteur âge, deux sous-catégories ont été créées en se basant sur l'âge médian des chevaux suivis. On a donc, d'un côté, les chevaux d'un âge supérieur à 9 ans, et de l'autre les chevaux d'un âge inférieur ou égal à 9 ans.

Lors de la comparaison entre chevaux témoins et chevaux avec signes neurologiques, le risque est significativement ($p = 0,05$) plus important pour les chevaux les plus âgés, de développer des signes neurologiques. Néanmoins, l'âge ne semble pas influencer le développement de signes neurologiques en plus de la fièvre (Tableau 6).

3.6.3. Signes cliniques et hébergement

Le seul facteur significatif révélé par la régression logistique univariée (Tableau 5), est l'emplacement dans la tente ($p = 0,03$). En effet, les chevaux logés à l'intérieur de la tente avaient 6 fois plus de chances de développer la rhinopneumonie que les chevaux hébergés à l'extérieur ou sur les côtés de la tente. De plus, l'emplacement dans la tente est aussi associé au développement de signes neurologiques comparativement aux chevaux témoins ($p = 0,02$).

3.6.4. Signes cliniques et test PCR

Concernant les tests PCR, 6 résultats ne sont pas disponibles pour des chevaux ayant développé de la fièvre et des signes neurologiques. Ces chevaux ont été hospitalisés en dehors du site.

Le fait d'avoir un test PCR positif à HVE-1 augmentait le risque pour les chevaux de développer des symptômes neurologiques par rapport aux chevaux témoins.

TABLEAU 6 : FACTEURS POTENTIELLEMENT ASSOCIES AUX MANIFESTATIONS CLINIQUES. COMPARAISON DES TEMOINS, DES CHEVAUX AVEC SEULEMENT DE LA FIEVRE ET DES CHEVAUX AVEC DES SIGNES NEUROLOGIQUES. REGRESSION LOGISTIQUE MULTIVARIEE ET ORDINALE PAR CATEGORIE ADJACENTE.

Facteurs	Cas avec fièvre seule (N = 30)	Cas avec signes neurologiques (N = 20)	Témoins (N = 10)	Fièvre seule VS témoins			Signes neurologiques VS témoins			Signes neurologiques VS fièvre seule		
				OR ₁	IC ₁ à 95 %	p-value	OR ₂	IC ₂ à 95 %	p-value	OR ₃	IC ₃ à 95 %	p-value
Sexe												
Etalon et hongre	18	8	2	6,0	1,1 – 33,3	0,04	2,7	0,5 – 16,0	0,28	0,4	0,1 – 1,4	0,17
Jument	12	12	8									
Age												
> 9 ans	13	12	2	3,1	0,6 – 16,9	0,20	6,0	1,0 – 35,9	0,05	2,0	0,6 – 6,2	0,25
≤ 9 ans	17	8	8									
Durée de la fièvre (jours)	3,6	4,7	0	-	-	-	-	-	-	1,3	1,0 – 1,8	0,08
Emplacement												
A l'intérieur	17	14	2	5,2	1,0 – 28,9	0,06	9,3	1,5 – 57,7	0,02	1,8	0,5 – 5,9	0,34
A l'extérieur/sur les côtés	13	6	8									
Test PCR sur ENP												
Positif	13	10	2	3,1	0,6 – 16,9	0,20	10,0	1,4 – 69,3	0,02	3,3	0,8 – 12,8	0,09
Négatif	17	4	8									

OR = Odd Ratio et IC = Intervalle de Confiance. ENP = Ecouvillon Nasopharyngé

3.7. Tests diagnostics

Dans le cadre de la gestion de cette épidémie de rhinopneumonie, les chevaux ont été suivis d'un point de vue analytique. L'équipe de vétérinaires français a suivi les chevaux à l'aide de test PCR, sur écouvillon nasopharyngés, envoyés et analysés par le LABÉO Franck DUNCOMBE à Caen (France). Les vétérinaires espagnols ont réalisé des tests PCR sur écouvillons nasaux mais également sur tube EDTA, envoyés et analysés dans un laboratoire de Madrid (Espagne).

Parmi les 74 chevaux, 10 n'ont pas été échantillonnés car ils n'étaient pas sur place (hospitalisation à Barcelone ou Valence).

Sur les 21 chevaux prélevés le 3 mars, 12 ont eu des résultats similaires pour les deux types d'écouvillons : 7 positifs et 5 négatifs. Par contre pour 9 chevaux (42,9 %), les résultats sur écouvillons étaient différents entre les deux laboratoires (Tableau 7).

TABLEAU 7 : RESULTATS DES TESTS PCR OBTENUS PAR LES LABORATOIRES FRANÇAIS ET ESPAGNOLS, AVEC DES METHODES DIFFERENTES.

Cheval	Espagne SANG	Espagne EN	France ENP
C1	Négatif	Négatif	Négatif
C2	Négatif	Négatif	Négatif
C3	Négatif	Négatif	Négatif
C4	Négatif	Négatif	Négatif
C5	Positif	Positif	Positif
C6	Négatif	Négatif	Positif
C7	Négatif	Négatif	Négatif
C8	Négatif	Négatif	Positif
C9	Positif	Positif	Négatif
C10	Positif	Positif	Positif
C11	Positif	Positif	Positif
C12	Négatif	Négatif	Positif
C13	Positif	Positif	Positif
C14	Négatif	Négatif	Positif
C15	Négatif	Négatif	Positif
C16	<i>Négatif</i>	<i>Positif</i>	<i>Positif</i>
C17	<i>Positif</i>	<i>Négatif</i>	<i>Positif</i>
C18	Positif	Positif	Positif
C19	Négatif	Négatif	Positif
C20	<i>Négatif</i>	<i>Positif</i>	<i>Positif</i>
C21	Négatif	Négatif	Positif

EN = Ecouvillon Nasal ; ENP = Ecouvillon Nasopharyngé ; SANG = sur sang total sur tube EDTA ; **en gras** : résultats divergents entre PCR EN et PCR ENP ; *en italique* : résultats divergents entre PCR SANG et PCR EN.

Pour 3 des chevaux, le résultat de la PCR sur sang EDTA et celui sur écouvillon nasal réalisé par le laboratoire de Madrid, diffèrent.

Les deux méthodes sur écouvillon, Espagnole et Française, ont été comparées en déterminant la concordance ainsi que le coefficient kappa (Tableau 8). La concordance observée (C_o) est de 57,1 % (concordance réelle $C = 12,2$ %) et le coefficient kappa est de seulement 0,22, révélant un mauvais accord entre ces deux méthodes PCR sur écouvillon.

TABLEAU 8 : COMPARAISON DES RESULTATS PCR ENTRE ECOUVILLON NASAL EN ESPAGNE ET ECOUVILLON NASOPHARYNGE EN FRANCE.

		Résultats Espagne		Total France
		Positif	Négatif	
Résultats France	Positif	7	8	15
	Négatif	1	5	6
Total Espagne		8	13	21

De la même façon, les deux méthodes espagnoles (PCR sur sang et PCR sur écouvillon nasal) ont été comparées entre elles (Tableau 9). On constate que $C_o = 85,7$ % ($C = 31,7$ %) et que kappa est de 0,69, révélant ainsi un bon accord entre les deux méthodes.

TABLEAU 9 : COMPARAISON DES RESULTATS PCR ENTRE ECOUVILLON NASAL ET SANG EDTA EN ESPAGNE.

		Résultats sur écouvillon		Total sur sang
		Positif	Négatif	
Résultats sur sang	Positif	6	1	7
	Négatif	2	12	14
Total sur écouvillon		8	13	21

Le suivi par PCR a été effectué chaque semaine, du 3 mars au 30 avril, par le LABÉO, toujours sur écouvillons nasopharyngés, et ce pour 21 des chevaux français (un cheval hospitalisé à Barcelone, non suivi) et les 3 chevaux canadiens (Tableau 10).

En ne tenant compte que des résultats du LABÉO, sur les 22 chevaux prélevés début mars, 16 sont revenus positifs (72,7 %). Parmi ces chevaux, 7 d'entre eux (43,8 %) sont devenus négatifs la semaine d'après et le sont restés. Pour les 9 autres chevaux (56,2 %) :

- 2 (12,5 %) sont devenus négatifs la semaine d'après mais sont redevenus positifs au bout de 1 ou 2 semaines ;
- 5 (31,3 %) sont devenus négatifs au bout de 2 ou 3 semaines et le sont restés ;
- 2 sont restés positifs jusqu'à fin avril et l'un d'eux est mort par la suite.

A l'aide des nombreux échantillons collectés, le LABÉO a pu isoler et typer le virus HVE-1 en cause dans cette épidémie. Une discrimination allélique a été réalisée sur 19 échantillons positifs, et a permis de déterminer que toutes les souches avaient un génotype A₂₂₅₂ (ORF30) généralement associé à un phénotype non neuropathogène de l'HVE-1. Les virus de 2 chevaux, restés à Valence, ont été isolés sur culture cellulaire et caractérisés par MLST comme appartenant au clade 10 [14]. Cette souche est proche de souche en circulation depuis plusieurs années en Europe, et donc probablement une souche particulièrement virulente. Les fragments ORF utilisés pour le MLST ont ensuite pu être séquencés, ce qui a révélé la présence d'une mutation en position 713 de l'ORF11 (A₇₁₃ → G₇₁₃) par rapport aux souches de référence Ab4 et V₅₉₂. Cette mutation n'a jamais été identifiée dans les séquences ORF11 des différentes souches étudiées à travers le monde. Le côté unique de cette mutation suggère que ce SNP constitue un marqueur permettant d'identifier les chevaux infectés par ce nouveau variant d'HVE-1, le variant « Valencia » [14].

TABLEAU 10 : SUIVI DE 21 CHEVAUX FRANÇAIS ET 3 CHEVAUX CANADIENS, PAR PCR SUR ECOUVILLON NASOPHARYNGES - LABEO FRANCK DUNCOMBE (CAEN, FRANCE).

Chevaux	Vaccination	Fièvre	MEH	Temps entre début des symptômes et la 1 ^{ère} PCR	03/03	09/03	16/03	23/03	30/03	06/04	12/04	19/04	30/04
C1	NON	NON			N	N	N						
C2	NON	OUI	NON	14	N	N	N						
C3	OUI	OUI	OUI	16	N	N	N						
C4	NON	OUI	NON	18	N	N	N						
C5	OUI	OUI	NON	10	P	P	N	N	N				
C6	OUI	OUI	OUI	3	P	N	N	N	N				
C7	OUI	OUI	NON	13	N	N	N	N	N				
C8	OUI	OUI	OUI	7	P	N	N	NE	N				
C9	OUI	OUI	OUI	13	N	N	N	N					
C10	OUI	OUI	OUI	12	P	NE	NE	P**	P	P	P	P	Mort
C11	OUI	OUI	OUI	12	P	P	P	N	N	N			
C12	OUI	OUI	NON	10	P	N	N	N					
C13	NON	OUI	OUI	11	P	P	N	N	N				
C14	OUI	OUI	NON	12	P	N	N	N					
C15	OUI	OUI	NON	10	P	N	N	N					
C16	OUI	OUI	NON	11	P	P	P	P	P	P	P	P	N
C17	OUI	OUI	NON	5	P	P	P	N	N	N			
C18	OUI	OUI	NON	10	P	N	N	P	P	N	P	N	N
C19	NON	OUI	OUI	7	P	N	N	N					
C20	NON	OUI	NON	13	P	N	P	P	P	N	N	N	
C21	OUI	OUI	NON	12	P	P	N	N	N	N			
C22	OUI	OUI	OUI	13	P*	N	N	N					
C23	NON	OUI	OUI	10	NE	NE	N	N	N	N			
C24	OUI	OUI	OUI	11	NE	NE	NE	NE	N	N			

MEH = Myéloencéphalopathie à HVE-1, autrement dit signes neurologiques ; NE = Non Evalué ; P = résultat PCR positif ; N = résultat PCR négatif

*cheval prélevé le 06/03 et non le 03/03 ; **cheval prélevé le 25/03 et non le 23/03.

Partie 4 – Discussion

Le cas index de l'épidémie de Valence n'a pu être déterminé. Cependant, il est probable qu'il y ait eu plus d'une source d'excrétion virale. Les deux plus probables sont [15] :

- Un cheval arrivé sur site en étant déjà excréteur (contamination avant ou pendant le trajet vers la compétition)
- Une réactivation de virus latent durant le transport ou la compétition.

4.1. Biosécurité

Plusieurs facteurs peuvent être mis en cause quant à la propagation rapide et importante du virus au sein du CES Valencia, notamment des mesures de biosécurité manquantes ou mises en place tardivement. L'herpèsvirus équin est un virus résistant et pouvant se transmettre, non seulement par un contact direct entre les chevaux mais également *via* les mains des grooms, cavaliers et autres, et via divers supports (brosses, couvertures, seaux...).

Une étude menée en 2020 a permis d'étudier la persistance environnementale de l'HVE-1 pendant au moins 48h. Pour cela un *inoculum* standard de la souche HVE-1 a été appliqué sur différents supports : cuir, tissu polyester-coton, deux types de litières (copeaux de bois et paille), et du polystyrène. Chacun des matériaux utilisés a ensuite été exposé à trois environnements différents : l'extérieur, l'intérieur et un environnement à 4°C. Un titrage du virus ainsi qu'une PCR quantitative ont été effectués à six reprises pendant 48h. A la fin de ces 48h, de l'HVE-1 viable a été récupéré pour toutes les combinaisons matériaux-conditions ; la persistance diminuant avec le temps. L'environnement avec le plus grand impact, quel que soit le support, était l'extérieur, suivi de l'intérieur puis l'environnement à 4°C. Le matériau avec le plus grand impact sur la persistance, était les copeaux de bois, suivi du cuir, de la paille, du tissu et enfin du polystyrène [7]. Bien que la réglementation de la FEI recommande une utilisation individuelle des équipements ou à minima une désinfection entre deux chevaux, dans le cadre du jumping de Valence, ces recommandations ne semblent pas avoir été mises en œuvre dès le départ. Cette gestion inappropriée des équipements a probablement contribué à la propagation du virus au sein des écuries de Valence.

D'après une autre étude menée en 2017, l'herpèsvirus serait même stable dans l'eau et garderait sa capacité infectieuse sur une longue durée. L'HVE-1 a été exposé à des environnements aquatiques variés (pH, salinité, température et turbidité) sur une

période de 3 semaines. La présence et l'infectiosité du virus ont été contrôlées par culture cellulaire et PCR quantitative. Chaque variation de l'environnement impacte la persistance et l'infectiosité de l'herpèsvirus différemment : une eau alcaline permet de maintenir une forte infectiosité, la salinité ne semble pas avoir d'effet statistiquement significatif sur la stabilité du virus, la température joue sur la persistance du virus (meilleure persistance à basse température) et enfin la turbidité permettrait une meilleure persistance du virus. Au final, il ressort de cette étude que l'HVE-1 reste stable et infectieux dans de nombreuses conditions aquatiques et ce jusqu'à trois semaines [16].

Ces deux études démontrent l'importance de la gestion de l'environnement pour éviter la propagation de la rhinopneumonie. **Dans le cas du jumping de Valence les premières mesures n'ont été mises en place qu'à partir du 6 mars, soit 3-4 semaines après l'apparition du cas index.**

Lorsqu'on reprend le cours des événements sur le site de Valence, plusieurs erreurs/manques de biosécurité expliquent cette rapide propagation dans l'effectif présent. Certaines d'entre elles sont pourtant exigées par les Vet Regulations mais n'ont pas été respecté [9]. Pour commencer, le contrôle vétérinaire à l'arrivée n'a pas été correctement conduit et aucune trace n'existe quant au contrôle quotidien de la température rectale ; rien ne prouve que les cavaliers et leur entourage aient réalisé ce suivi de température. Puis au moment de l'épidémie, aucun sens de circulation ni aucune restriction d'accès n'ont été mis en place, ce qui aurait minimisé la propagation virale [15]. De plus, il est normalement exigé qu'un tel événement ait un plan d'urgence de biosécurité dans l'éventualité d'une épidémie [9]. Malgré plusieurs requêtes de la part de la FEI, aucun protocole ou plan de biosécurité n'a été fourni par le CES Valence [15].

Enfin, malgré la présence de 6 chevaux ayant de la fièvre, le 19 Février, ainsi qu'un cas de MEH en France, aucune mise en quarantaine n'a été mise en place, ni aucune information transmise à la FEI comme exigé dans l'article 1078 des Vet Regulations [9], [15]. Cet article stipule qu'un cheval présentant le moindre signe de maladie infectieuse doit être placé en box d'isolement et doit subir les tests nécessaires pour valider ou non l'hypothèse de maladie infectieuse. En cas d'infection avérée par HVE-1, il est recommandé de procéder à une quarantaine de 28 à 35 jours [17].

4.2. Vaccination

Jusqu'à fin 2021, en France, la vaccination contre l'HVE-1 n'était obligatoire que pour les chevaux de course (Trotteurs et Pur-Sang). A la suite de l'épidémie de Valence, cette vaccination est également devenue obligatoire pour les chevaux de moins de 3 ans participant à des compétitions sous l'égide de la SHF. Pour les autres équidés de sport, il ne s'agit que d'une recommandation. Pour rappel, le RESPE estime seulement à 20-30 % le taux de chevaux vaccinés en France [1]. Néanmoins dans d'autres pays, tel que les Etats-Unis, la vaccination contre la rhinopneumonie est obligatoire depuis de nombreuses années pour les chevaux participant à des compétitions [18], et la couverture vaccinale y est donc certainement plus importante.

Concernant le jumping de Valence, 26,9 % des chevaux restés sur site étaient vaccinés, et si l'on ne considère que la population de 60 chevaux étudiée, 55 % étaient vaccinés. En l'absence d'information sur la population globale, il est impossible de savoir si la couverture vaccinale était suffisante (> 80%).

Pour rappel, la rhinopneumonie se présente sous 3 formes différentes : une forme respiratoire, une forme neurologique et une forme abortive. Or, les vaccins actuellement sur le marché ne protègent pas les chevaux contre la forme neurologique de l'HVE-1 [19]. Cependant, une utilisation généralisée des vaccins intramusculaires et/ou l'amélioration des méthodes de gestion des troupeaux reproducteurs semblent avoir réduit de 75 % l'incidence des vagues d'avortement liées à l'HVE-1 aux Etats-Unis et des études de terrains, en Europe, semblent appuyer cette conclusion. Même si les animaux restent individuellement sensibles à la forme respiratoire et abortive, l'administration de vaccins réduit la quantité et la persistance du virus excrété dans le nasopharynx [20].

En 2010, une étude comparative a été menée sur deux vaccins disponibles dans le commerce pour déterminer leur efficacité protectrice avec un protocole vaccinal à 3 doses : un vaccin viral vivant modifié (MLV) et un vaccin à virus inactivé à forte charge d'antigènes homologué pour le contrôle des avortements. Trois groupes composés de 8 jeunes poneys ont reçu l'un des trois traitements suivants : le vaccin MLV (Rhinomune®, Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc.), le vaccin à virus inactivé (Pneumabort-K®, Pfizer Animal Health) ou un placebo (solution saline). Trois injections

ont été réalisées à des intervalles de 27 et 70 jours, suivie d'une infection intentionnelle 24 jours plus tard. Les signes cliniques, après provocation, ont été significativement réduits dans les deux groupes vaccinaux ; la réduction était plus importante dans le groupe MLV. L'excrétion nasale a été réduite d'au moins 1 à 2 logs dans les deux groupes vaccinaux. Le nombre de jours de virémie a été significativement réduit dans le groupe à vaccin inactivé, seulement. Cette étude a démontré que les deux vaccins commerciaux supprimaient de manière significative les signes cliniques de l'HVE-1 et l'excrétion virale nasale, et qu'un vaccin réduisait le nombre de jours de virémie [21].

Avant cela, en 2001, une étude avait été menée sur un vaccin inactivé et avec adjuvant, le Duvaxyn EHV-1,4® (nouvellement EQUIP EHV-1,4®). Cette étude, menée sur des juments gestantes et des poulains, conclue que le Duvaxyn EHV-1,4® est un vaccin bivalent qui protège contre les avortement à HVE-1, réduit la sévérité des formes respiratoires associées à l'HVE-1 et 4, et minimise les risque d'épidémie en réduisant la quantité de virus excrété et la durée de l'excrétion [22].

Enfin d'après les résultats obtenus par Bannai *et al.* (2014), une couverture vaccinale élevée permettrait d'éviter l'apparition d'épizooties à HVE-1. Une population de chevaux de course âgés de 3 ans a été vaccinée à l'aide d'un vaccin inactivé. Le nombre de chevaux atteints de fièvre due à HVE-1 et/ou HVE-4, a été étudié afin d'évaluer l'efficacité du vaccin. Avec une couverture vaccinale près de 100%, le nombre de chevaux infectés a considérablement diminué [23].

Au CES de Valence, tous les chevaux étaient vaccinés avec l'EQUIP EHV-1,4® (anciennement Duvaxyn EHV-1,4®) et un protocole de primovaccination à 3 injections et rappel tous les 6 mois. Ainsi, d'après les études susmentionnées, si tous les chevaux avaient été vaccinés à Valence, l'excrétion nasale et le temps de virémie réduits, auraient permis d'avoir une propagation plus lente du virus au sein de la population.

Cependant, même si la vaccination reste le moyen optimal de prévenir les maladies infectieuses dans de nombreuses circonstances ; rien ne prouve que les vaccins actuels puissent prévenir les cas de MEH survenant naturellement [24].

4.3. Signes cliniques

L'infection primaire par l'HVE-1 survient dans le tractus respiratoire. Cette infection peut être légère ou asymptomatique chez les chevaux âgés ou précédemment exposés. Au contraire, chez les jeunes chevaux, les manifestations sont plus sévères avec fièvre biphasique, abattement, anorexie, toux et jetage nasale séreux pouvant devenir mucopurulent en cas de surinfection bactérienne [6]. Les manifestations secondaires incluent l'avortement, la mortinatalité, la chorioretinopathie et la maladie neurologique connue comme MEH. Cette dernière se caractérise par de l'ataxie et de la faiblesse, causées par des lésions de la moelle épinière, pouvant être plus ou moins sévères, symétriques ou non, et pouvant aller jusqu'au décubitus (paralysie ou tétraplégie). Généralement, les membres pelviens sont plus atteints, ce qui résulte en une ataxie postérieure, un dysfonctionnement vésicale avec l'urine qui s'écoule par trop-plein, un déficit sensoriel de la zone périnéale, et une perte de tonus de la queue et de l'anus avec rétention fécale [25]. Ces signes cliniques ont été observés parmi les chevaux ayant développé une forme nerveuse dans la population étudiée à Valence.

Les signes nerveux surviennent généralement dans les 6 à 10 jours suivant l'infection à HVE-1 (1 à 3 jours après l'arrêt de la fièvre) et le pic de sévérité est atteint en 2 à 3 jours [25]. Ceci concorde avec les observations de notre population car le délai entre le dernier jour de fièvre et l'apparition de signes neurologiques est de 1 à 4 jours avec une moyenne de $1,1 \pm 1,3$ jours.

Les foyers d'HVE-1 sont caractérisés par un grand nombre de chevaux atteints, de façon légère à modérée, par une maladie respiratoire et de la fièvre, et 10 à 40 % de chevaux infectés développent une MEH [6]. En janvier 2003 à l'Université de Findlay (Ohio, Etats-Unis), une épidémie d'HVE-1 a touché les écuries, et 117 chevaux (86,7 %), parmi les 135 du site, ont présenté des signes cliniques. Ataxie postérieure et faiblesse, ont été développées par 46 chevaux (39,3 %) [26]. Ces pourcentages concordent avec nos résultats puisque dans notre population de 60 chevaux, 50 ont présenté de la fièvre (83,3 %) et 20 ont développé des symptômes neurologiques (33,3 % considérant la population étudiée de 60 chevaux et 40 % en ne considérant que les 50 chevaux malades).

Enfin concernant la mortalité chez les chevaux MEH, notre étude révèle des résultats bien plus faibles que des études précédemment menées, avec seulement 3 chevaux morts

(taux de mortalité = 5 % et taux de létalité = 15 %). En effet, à l'université de Findlay, parmi les 46 chevaux ayant développé une MEH, 14 sont morts (taux de mortalité = 12 % et taux de létalité = 30 %)[26]. Une étude rétrospective menée par Van Galen *et al.* (2015), sur les cas de MEH en France entre 2008 et 2011, a révélé un taux de létalité allant jusqu'à 46% chez les chevaux atteints de la forme neurologique de l'HVE-1 [20].

4.4. Facteurs de risque

Au fur et à mesure des études, plusieurs facteurs de risque de développement d'une MEH ont été identifiés ; il reste également des facteurs de risque supposés qui n'ont pas encore été confirmés.

Parmi les facteurs de risque connus dans la littérature, on retrouve l'âge. D'après une étude menée sur des juments infectées expérimentalement, les chevaux âgés de plus de 20 ans auraient 8 fois plus de risque de développer une MEH que les chevaux jeunes (< 15 ans) ou d'âge intermédiaire [27]. D'autres études rétrospectives sur des épidémies survenues en Hollande ou aux États-Unis, ont respectivement indiqué que le risque était plus élevé chez les chevaux de plus de 3 ans [28] et de plus de 5 ans [26]. Dans le cas de l'épidémie de Valence, il a été démontré que le risque était 6 fois plus important pour les chevaux « âgés » (> 9 ans), de développer des signes neurologiques.

Un autre facteur de risque que l'on retrouve fréquemment est le sexe. À première vue, les résultats de Valence semblaient indiquer que les femelles étaient plus à risque de développer une MEH. Pourtant, après étude statistique, cette observation ne ressort pas comme étant un résultat significatif, mais seulement comme une impression en raison de la petite taille de la population étudiée. L'étude statistique a au contraire conclu que les mâles (étalons et hongres confondus) avaient 6 fois plus de risque de développer de la fièvre que les juments, mais que le sexe n'avait pas d'effet sur le développement de signes neurologiques. Ces résultats sont cohérents avec ceux de Henninger *et al.* (2007) mais diffèrent de plusieurs études qui ont constaté que les femelles étaient plus à risque de développer des symptômes neurologiques lors d'affection à l'HVE-1, que les mâles [24], [28]–[31].

Dans l'étude de Valence, un autre facteur de risque, peu étudié précédemment, a été pris en compte. Il s'agit de la localisation dans les écuries, un facteur propre aux

conditions d'hébergement de cette compétition. En effet, les chevaux hébergés dans les boxes situés au milieu, avaient 6 fois plus de risque de développer des signes cliniques, que les chevaux hébergés sur les côtés de la tente ou à l'extérieur. L'hypothèse émise est que les chevaux au centre de la tente ont été exposés à une quantité plus importante de virus à cause de la mauvaise ventilation et donc d'un renouvellement d'air moindre. Henninger *et al.* ont émis la même hypothèse concernant l'épidémie au centre équestre de l'université de Findlay en 2003. Selon eux, le stress associé à l'introduction d'un grand nombre de nouveaux chevaux, des mouvements non contrôlés des chevaux dans le centre équestre ainsi que la mauvaise ventilation des écuries, ont contribué à une dissémination rapide de l'infection [31].

Enfin un dernier facteur souvent mis en avant dans la littérature, mais qui n'a pas pu être évalué pour Valence, est le stress ; stress au sens large qu'il soit dû au sevrage, rassemblement, transport ou encore une infection concomitante [24]. Dans le cadre du CES de Valence, de nombreux pays étaient représentés donc certains chevaux ont subi de longues périodes de transport. Si parmi eux certains étaient des porteurs latents d'HVE-1, le stress généré par le transport, a pu réactiver le virus et ainsi engendrer une sécrétion virale, sans forcément être à l'origine de symptôme chez les chevaux porteurs. Une étude a été menée sur 302 chevaux adultes ayant séjourné, en quarantaine, à l'université de Californie entre Janvier 2007 et Juillet 2008 [32]. Les chevaux concernés étaient considérés comme en bonne santé et ayant subi un long trajet avant leur quarantaine. Un échantillon de sang total et sérum, ainsi qu'un écouvillon nasopharyngé, ont été collectés pour chacun des chevaux à leur arrivée à l'université. Trois chevaux ont ainsi été testés positifs à HVE-1 (2 sur écouvillons et 1 sur prélèvement sanguin) à leur arrivée, mais ont été testés négatifs 3 jours après et n'ont présenté aucun signes cliniques durant toute leur quarantaine. Un autre cheval, au jour 8 de sa période de quarantaine, a développé de la fièvre (40,3°C), un jetage nasal séro-muqueux bilatéral, une raideur généralisée et un œdème modéré des membres postérieurs, et a été testé positif par PCR sur écouvillon nasopharyngé avec une forte charge virale. L'absence de signes cliniques observé chez les chevaux testés positifs, le faible nombre de copies virales dans le sang ou les sécrétions nasopharyngées, ainsi que l'absence d'une réponse immunitaire mesurable, sont les caractéristiques d'une réactivation d'un virus latent. La réactivation virale est probablement une conséquence de la suppression de leur réponse immunitaire secondaire au stress. Concernant le 4^{ème}

cheval, les auteurs n'ont pu que supposer qu'il s'agissait d'une infection primaire mais n'ont pu en déterminer la source, sachant que les chevaux importés ont de multiples opportunités d'être exposé à des agents infectieux. En effet, même si la réactivation survient, la charge virale dans les sécrétions nasopharyngées des chevaux est faible et représente donc rarement une source d'infection pour des chevaux sensibles [32].

Ainsi dans le cas de Valence, on ne peut exclure que le cas index relève d'une réactivation virale suite au stress généré par le transport et que le cheval ait été asymptomatique. Il a donc pu excréter suffisamment de virus pour contaminer d'autres chevaux soit par contact direct soit via les différents matériels utilisés en commun.

4.5. Tests diagnostics

4.5.1. PCR HVE-1

Auparavant, l'isolation virale à partir d'écouvillon nasopharyngé ou de sang, était le gold standard dans le diagnostic d'une excrétion virale ou d'une virémie, respectivement. Mais depuis une dizaine d'année, la PCR qui est à la fois plus sensible et rapide, a largement remplacé l'isolation virale [33]. Ainsi, en routine, les laboratoires utilisent désormais la PCR en temps réel sur les sécrétions nasales ou nasopharyngées et sur le sang total. Mais dès lors qu'on est dans le cadre d'une épidémie, la culture, l'isolation et l'identification du virus HVE-1 en cause, reste indispensable [24].

La qPCR pourrait également permettre de déterminer la charge virale, la souche et l'état du virus (lytique, non-répliquant, latent), et permet ainsi d'évaluer au mieux le risque pour les chevaux à proximité, et de réaliser un suivi sur les chevaux infectés [34].

La charge virale excrétée par les sécrétions respiratoires, est à distinguer de la virémie : la première étant le reflet de la contagiosité de l'individu lorsque la seconde montre une infection active. Les chevaux présentant des signes neurologiques associés à une infection à HVE-1, ont une faible virémie mais une sécrétion virale très importante, jusqu'à 1 million de fois plus élevée dans les sécrétions nasales [35]. Au contraire, une charge virale faible à la fois dans le sang et les sécrétions nasales, est le signe d'une infection latente [34]. Souvent, les laboratoires se contentent de noter positif ou négatif comme résultat, mais s'ils notaient la charge présente dans l'échantillon, cela permettrait une gestion encore plus précise des chevaux, en distinguant les chevaux à

forte ou faible sécrétion, et donc le risque qu'ils représentent pour les autres chevaux [24]. Dans les résultats de Valence, la charge virale n'était pas disponible, les mesures de biosécurité se basaient sur le résultat positif ou non, et sur la présence ou non de signes cliniques. Malheureusement, les tests diagnostiques n'ont pas été réalisés avant de déplacer les chevaux entre les divers boxes. Par conséquent, plusieurs chevaux ont présenté des signes cliniques une fois arrivés dans les boxes permanents, devant accueillir les chevaux sains, et ont donc été reconduits dans la tente. Par la suite, un protocole de plusieurs tests PCR consécutifs, menés par le LABÉO, a permis d'organiser le retour des chevaux français. Celui-ci était basé sur l'obtention de 3 tests PCR négatifs afin de quitter la quarantaine et rentrer en France.

Certains chevaux étaient encore positifs après 47 jours. Néanmoins, rien ne prouve qu'ils étaient encore contagieux, autrement dit fort excréteur, puisque le test PCR peut détecter une faible charge virale ; 1 TCID₅₀ de virus HVE-1 et environ 0,15 pg d'ADN [36]. L'étude de Burgess *et al.* (2012) a démontré que l'excrétion nasal d'HVE-1 pouvait persister au moins 9 jours après le début des signes neurologiques, mais au vue du faible nombre de chevaux dans cette étude, les auteurs ont émis l'hypothèse que l'excrétion pourrait durer 2 semaines voir plus [37]. Une autre étude, avec une population plus importante (39 chevaux adultes et 35 poneys adultes), a montré que certains chevaux pouvaient rester positifs après 22 jours [34].

A Valence, les tests PCR n'ont pas uniquement été mené par le LABÉO en France, un laboratoire espagnol a également mené des tests PCR mais sur sang total prélevé sur tube EDTA, et sur écouvillon nasal. Le laboratoire de Madrid a obtenu, pour 3 chevaux, des résultats différents entre le sang total et les sécrétions respiratoires. Comme expliqué plus haut, la charge virale dans le sang et celle dans les sécrétions nasales, ne fournissent pas la même information ; respectivement la virémie et l'excrétion virale. Ainsi, l'obtention de résultats contradictoire au sein même du laboratoire espagnol se comprend. Cependant, les résultats divergents entre les deux PCR sur sécrétions respiratoires, menées par les deux laboratoires, s'expliquent par des méthodes de prélèvement différentes, et probablement des méthodes d'analyses différentes. En effet, les équipes françaises ont employé des écouvillons nasopharyngés de 40 cm de long permettant de prélever au plus près du nasopharynx, alors que les équipes espagnoles ont employé des écouvillons nasaux de 12 cm de long permettant uniquement d'atteindre le méat ventral. La comparaison des deux méthodes a révélé une mauvaise

concordance quant aux résultats, avec un coefficient kappa de 0,22 seulement. Pourtant une étude de Pusterla *et al.* (2008) a démontré que les écouvillons nasaux pour la détection d'HVE-1, sont une alternative viable aux écouvillons nasopharyngés souvent moins tolérés par les chevaux [38]. *A contrario*, une étude portée sur l'excrétion du virus influenza équin (IE), a montré que les écouvillons nasaux sont bien moins efficaces que les nasopharyngés dans la fréquence de détection du virus et de sa quantité [39]. Ces études ne permettent pas d'affirmer que la méthode de prélèvement, est à elle seule à l'origine des résultats différents entre les deux laboratoires. Le type d'échantillon, son volume, la méthode d'extraction des acides nucléiques viraux, le gène ciblé, les amorces et sondes, ainsi que les kits PCR employés sont autant de variables pouvant influencer la sensibilité et la spécificité d'un test PCR [24], [33], [36].

Les test PCR se sont fortement développés ces dernières années, mais il reste important de tendre vers une standardisation des protocoles entre les laboratoires et de développer les contrôles de qualité interne, permettant une bonne fiabilité et une minimisation des faux négatifs [24], [33]. Finalement, les résultats PCR doivent permettre aux vétérinaires et autorités de gérer les cas de rhinopneumonie sur le terrain. Les laboratoires devraient donc envisager de reporter les informations quantitatives, autrement dit la charge virale ou une interprétation du résultat, en plus des résultats positifs/négatifs [24]. Ainsi, les vétérinaires pourraient, d'une part faire la distinction entre les chevaux avec une forte et une faible excrétion nasale, et donc estimer le risque d'exposition pour une population sensible, et d'autre part utiliser la virémie pour suivre la progression de l'infection et l'efficacité d'un traitement. La charge virale est une information disponible lorsque l'échantillon est analysé par PCR en temps réel, qui est plus longue et plus coûteuse qu'une PCR classique, mais cela pourrait s'avérer essentielle dans la gestion d'une épidémie comme dans le cas de Valence.

4.5.2. Isolement et caractérisation des virus

Lors de la gestion sanitaire, connaître les caractéristiques précises du virus HVE-1 en cause, n'est pas indispensable. Néanmoins l'isolement et la caractérisation du virus, prend tout son sens lorsqu'il s'agit de suivre l'évolution des virus circulant mais également d'avoir une traçabilité des cas associés au foyer d'origine.

A partir des écouvillons nasopharyngés analysés par le LABÉO, les souches HVE-1 incriminées ont pu être génotypées à l'aide du SNP A₂₂₅₄G dans l'ORF30, typées par

MLST et entièrement séquencées [14]. Le génotypage permet de distinguer les souches dites neuropathogènes (G₂₂₅₄), souvent associées au développement d'une MEH, des souches dites non neuropathogènes (A₂₂₅₄), plutôt associées au avortement et forme respiratoire [40]. Cependant, de nombreuses études décrivent l'inverse, des cas de MEH associés à une souche A₂₂₅₄ et des cas d'avortement associés à une souche G₂₂₅₄ [41]–[43]. Les résultats PCR de Valence vont dans le sens de ces dernières études, puisque les souches impliquées dans l'épidémie étaient de type A₂₂₅₄. Les désignations neuropathogène et non-neuropathogènes ressortent comme étant inadaptées, d'autant plus que de récentes études ont découvert de la cytosine en position 2254, C₂₂₅₄ [10], [44], [45].

Le MLST permet une étude phylogénétique des virus HVE-1 en cause et ainsi de les classer selon les clades décrites par Bryant *et al.* (2018) [12], [46], [47]. Deux souches ont été isolées sur 2 chevaux Français, FR/Valencia1/2021 et FR/Valencia2/2021 (numéro d'acquisition respectif : MW855961 et MW855962), qui appartiennent au clade 10 et qui sont étroitement liées à des souches déjà en circulation en Europe depuis quelques années [14]. Trois autres souches de chevaux Belges, atteint de MEH ont été séquencées et également classées dans le clade 10 : BE/21P40/2021, BE/21P40/2021 et BE/21P43_BD5/2021 (numéro d'acquisition respectif : MW855958, MW855959 et MW855960) [48], [49] (Figure 13).

Enfin, le séquençage complet du génome des 5 souches a révélé une mutation encore jamais identifiée, dans l'ORF11 sur le nucléotide 713. Cette mutation A₇₁₃G a été recherchée parmi 249 séquences ORF11 appartenant à divers souches à travers le monde, mais n'a été détectée dans aucune d'entre elles [14]. Cette nouvelle mutation a permis de créer un marqueur G₇₁₃ utilisé pour détecter les souches reliées à celle de Valence, et notamment celles en cause dans des avortements. Le SNP A₇₁₃G a été détecté dans l'écouvillon nasopharyngé d'un cheval, qui n'avait, à première vue, aucun lien avec l'évènement de Valence. Après investigations, il s'avère que ce cheval a séjourné dans une écurie qui, quelques jours avant, avait hébergé un cheval malade de retour de Valence [14].

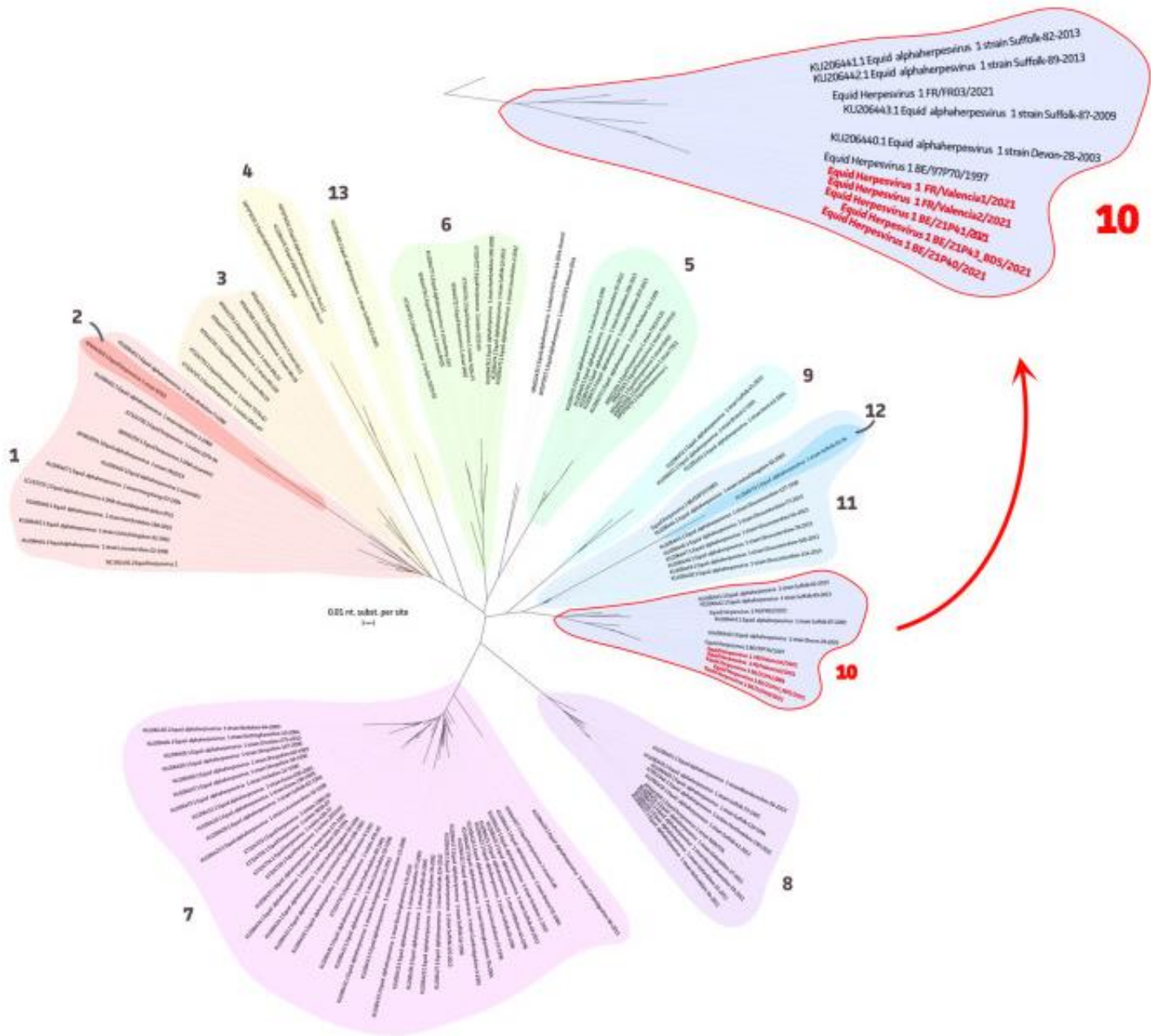


FIGURE 13 : ARBRE PHYLOGENETIQUE DE TOUS LES GENOMES HVE-1 DISPONIBLES, METTANT EN VALEUR LES NOUVELLES SOUCHES BELGES (N = 3) ET FRANÇAISES (N = 2) EN ROUGE DANS LE CLADE 10. CREDIT VEREECKE ET AL. (2021).

Partie 5 – Retour de la FEI sur l'évènement

La FEI a suivi de près et participé à la gestion de l'épidémie de Valence. Pour ce faire, la fédération a créé un groupe de travail d'épidémiologie vétérinaire dont le rôle était de suivre l'évolution de l'épidémie d'HVE-1, de fournir un avis expert sur sa gestion et de réfléchir sur les mesures à prendre à l'avenir pour ce type d'évènement. Ce groupe a permis d'adapter les mesures de biosécurité pour un retour à la compétition dans les meilleures conditions possibles. De nouvelles règles ont vu le jour, et ont été regroupées dans le « EHV-1 By-laws », autrement dit un règlement général des mesures consécutives à l'épidémie de Valence (Annexe 3). Ce règlement a été la fondation des modifications apportées à la version 2022 puis 2023 des Vet Regulations [50], [51].

5.1. Vaccination : une question centrale

Parmi les chevaux, ayant été gravement malades ou sont morts, un grand nombre était correctement vacciné contre HVE-1. Aucun vaccin n'est, à ce jour, connu comme protégeant contre la forme nerveuse de la rhinopneumonie, et rien ne prouve qu'un cheval vacciné soit plus à risque de développer une MEH. Pourtant, cela ne signifie pas que la vaccination ne devrait pas être plus étendue ou rendue obligatoire chez les chevaux de sport. Une couverture vaccinale de plus de 85% pourrait réduire le nombre de cas de MEH lors d'une épidémie.

Ainsi, l'une des questions récurrente au sein de la FEI, depuis le début de la crise de Valence, est : faut-il ou non rendre la vaccination HVE-1 obligatoire pour les compétitions de la FEI ?

Pour répondre à cette question, la FEI a notamment demandé son avis au Professeur GOEHRING. Celui-ci a expliqué que la vaccination à elle seule ne suffit pas à empêcher une épidémie d'HVE-1, elle doit être accompagnée de mesures de biosécurité adaptées. Il souligne tout de même, que la vaccination permet de ralentir la propagation et diminuer le nombre de cas neurologique. De plus, la FEI a connaissance de 4 projets en cours concernant de nouveaux vaccins, mais ces derniers ne devraient pas voir le jour avant 5 ans. Enfin, la FEI s'est interrogée sur l'accessibilité des vaccins déjà existants. Certains pays n'ont aucun vaccin avec licence quand d'autres subissent des difficultés d'approvisionnement. Ainsi, avec tous ces arguments, la FEI a décidé de ne pas rendre la vaccination HVE-1 obligatoire, tant qu'un vaccin sûr, efficace et largement disponible, n'existera pas sur le marché.

Néanmoins, la FEI laisse aux Fédérations Nationales, Centres de reproduction ou Sociétés hippiques, le choix de rendre ou non la vaccination obligatoire au sein de leur organisation. Les cavaliers Allemands souhaitant participer à des compétitions, ont l'obligation, depuis le 1^{er} janvier 2023, d'avoir un cheval vacciné contre HVE-1, en plus de l'Influenza Equin [52]. En France, en plus des chevaux de course, la vaccination contre la rhinopneumonie est devenue obligatoire en 2022, pour les chevaux participant à un évènement sous l'égide de la Société Hippique Française (à l'exception des poulains sous la mère) [53]. Le protocole vaccinal adopté suit de près celui des chevaux de course : 2 premières injections avec 21 à 60 jours d'intervalle puis une 3^{ème} injection 4 à 6 mois plus tard (120 à 180 jours pour les chevaux de course) et enfin un rappel recommandé tous les 6 mois (maximum annuel) ; aucun vaccin ne doit être réalisé dans les 7 jours précédant une compétition (Figure 14).

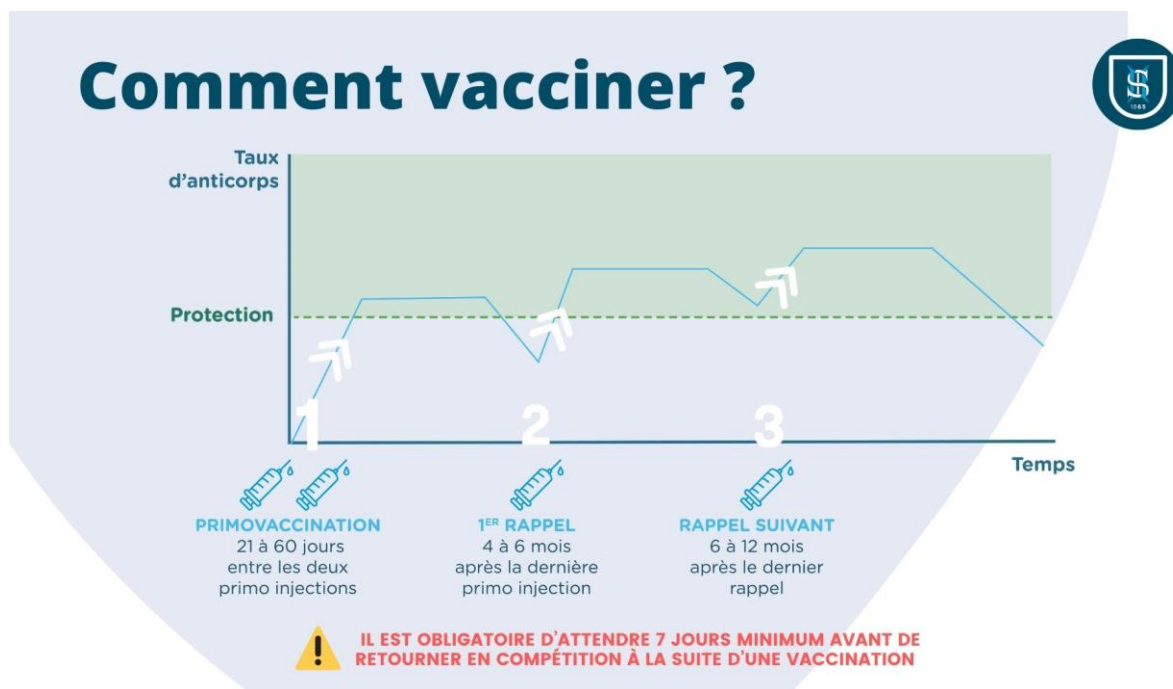


FIGURE 14 : PROTOCOLE DE VACCINATION RHINOPNEUMONIE POUR LES CHEVAUX PARTICIPANT A DES EPREUVES ORGANISEES PAR LA SHF (SAUF POULAIN SOUS LA MERE). CREDIT WWW.SHF.EU.

Concernant la vaccination de la grippe équine, la FEI fait actuellement preuve de souplesse avec un allongement de la période de rappel de 6 à 12 mois jusqu'au 1^{er} avril 2023. En effet, jusqu'à présent, les chevaux devaient avoir reçu un rappel dans les 6 mois précédant la compétition, mais en raison des difficultés d'approvisionnement en vaccin, la FEI a rallongé ce délai à 12 mois. De plus, à compter de Janvier 2024, la vaccination grippe devra suivre le nouveau protocole suivant : une 1^{ère} injection (PV1),

suivie d'une 2^{ème} injection 21 à 60 jours après (PV2) et enfin une 3^{ème} injection dans les 6 mois et 21 jours qui suivent (Booster). Les rappels devront être réalisés dans un intervalle maximum de 12 mois, et si le cheval participe à une compétition, le dernier rappel devra être réalisé dans les 6 mois et 21 jours (pas les 7 jours) précédant l'arrivée sur site.

5.2. Installation

Les installations du CES Valencia se sont révélées être insuffisantes et inadaptées à la gestion d'une telle épidémie. En effet, la tente dans laquelle tous les chevaux étaient hébergés, n'étaient pas suffisamment aérée, créant ainsi des zones à forte charge virale et permettant une rapide dispersion du virus. Désormais, pas plus de 200 chevaux ne devront partager le même espace, avec des blocs de maximum 16 boxes, et 6 mètres entre chaque bloc dans toutes les directions (Annexe 1).

D'autre part, seulement 2 boxes d'isolement étaient disponibles au lieu de 6 si le règlement de la FEI en vigueur, avait été respecté. De ce fait, des précisions ont été apportées aux Vet Regulations concernant le nombre et la localisation des boxes d'isolement [50]. Ces derniers doivent respecter les critères suivants :

- Ne pas être dans la même écurie ou du moins dans le même espace que les chevaux non-isolés ;
- Se trouver à une distance minimum de 50 mètres des zones de circulation des chevaux ;
- Être au nombre minimum de 2 avec un box supplémentaire par tranche de 100 chevaux. En cas d'occupation de tous les boxes d'isolement, l'évènement doit avoir une solution supplémentaire de quarantaine ;
- Ne pas être utilisé à d'autres fins que celle d'isolement ;
- Être équipé, à chaque entrée, de surbottes à usage unique, de combinaisons lavables ou jetables, d'un point d'eau, de savon, d'essuie-main et de gel hydroalcoolique.

De manière générale, l'ensemble des boxes et des écuries doivent être nettoyés, désinfectés puis scellés jusqu'à l'arrivée des chevaux, afin d'éviter toute contamination. Le CO doit garder un registre de cet entretien ainsi que les produits de désinfection employés, et ce pendant 24 mois après la fin de l'évènement.

5.3. Biosécurité : un nouveau point de contrôle

L'article 1018 des Vet Regulations stipule que tous les évènements doivent avoir un plan de contingence en matière de biosécurité, dans le cas où une maladie infectieuse venait à se déclarer sur le site de la compétition (*cf.* partie 1.5. Procédures d'urgence). Dans le cas de Valence, le CO n'a jamais fourni ce plan à la FEI malgré de nombreuses relances. Désormais, lorsque le CO d'une compétition transmettra le planning de l'évènement à la FEI, il devra également transmettre le plan d'urgence au Délégué Vétérinaire. S'ajoute au plan d'urgence, un plan des écuries avec un sens de circulation afin de minimiser les contacts directs, un registre des entrées/sorties des chevaux et de tout individu entrant dans les écuries, et un registre détaillant l'emplacement de chaque cheval. Pour une meilleure prévention des risques, les chevaux seront séparés entre vaccinés et non-vaccinés, et les chevaux ayant voyagé ensemble seront hébergés dans les mêmes blocs. En outre, tous les départs du site devront être préalablement autorisés, puis enregistrés par le CO.

Enfin, une nouvelle mesure mise en place à la suite de l'épidémie de Valence, est la pré-inspection. Autrement dit un contrôle des installations et équipes du site, ainsi que des mesures de biosécurité, sera réalisé pour les évènements de 3 semaines consécutives ou plus, et avec plus de 400 chevaux sur site. Cependant, tout évènement pourrait subir une pré-inspection de biosécurité si le département vétérinaire de la FEI l'exige. Cette inspection se base sur une check-list mise à disposition des vétérinaires officiels (Annexe 2).

5.4. Contrôles vétérinaires : la révolution numérique

L'un des principaux points de défaillance dans l'organisation de Valence, était l'examen d'arrivée des chevaux. Ce contrôle aurait pu permettre d'anticiper l'épidémie.

Bien qu'obligatoire d'après l'article 1029 des Vet Regulation, les examens d'entrée sur le site des compétitions étaient rarement réalisés correctement. En réponse à cette défaillance, la FEI a fait évoluer l'application FEI HorseApp et a rendu son utilisation obligatoire.

5.4.1. La FEI HorseApp

Sortie en 2016, l'application FEI HorseApp a d'abord été utilisée pour transmettre les documents d'identification à la FEI (obligatoire à partir de janvier 2017). A la suite de l'épidémie de Valence, la fédération a très rapidement vu le potentiel de cette application dans le suivi et la gestion de l'épidémie. L'HorseApp a bénéficié de nombreux ajouts de modules lors de la reprise des compétitions en 2021, permettant à la FEI de garder le contrôle sur la biosécurité dans ses évènements. Cette application permet de :

1. Télécharger les documents d'identification du cheval (Propriétaire, cavalier ou groom)
2. Remplir l'attestation sur l'honneur affirmant de la bonne santé du cheval (Propriétaire, cavalier ou groom)
3. Entrer les températures rectales du cheval (Propriétaire, cavalier ou groom)
4. Enregistrer l'arrivée du cheval, permettant à la FEI de le localiser (Propriétaire, cavalier ou groom)
5. Réaliser l'examen d'arrivée du cheval (Vétérinaires)
6. Télécharger un test PCR négatif si nécessaire (Propriétaire, cavalier ou groom)
7. Valider la sortie du cheval (Comité d'organisation)

La FEI peut ainsi contrôler les arrivées et l'état de santé des chevaux, en continu mais aussi rétrospectivement, avec toutes les informations du cheval.

5.4.2. L'examen d'arrivée

Pour rappel lors de l'examen d'entrée, le vétérinaire en charge doit collecter les passeports de chaque cheval, et vérifier son identité ainsi que ses vaccins. Le cheval une fois déchargé, est installé dans un box de l'aire d'examen. Le vétérinaire va pouvoir se connecter à l'HorseApp, et la relier au lecteur de puce. La lecture de la puce permet de récupérer le dossier FEI du cheval, vérifier que l'attestation de bonne santé a bien été remplie, et que la température a bien été prise 2 fois par jour pendant les 3 jours précédant la compétition. Ensuite la personne responsable du cheval, avec son propre thermomètre, prend la température rectale du cheval sous la surveillance du vétérinaire qui l'enregistre ensuite dans l'HorseApp. La température relevée, détermine si le cheval peut ou non accéder aux écuries et donc à la compétition (Figure 15).

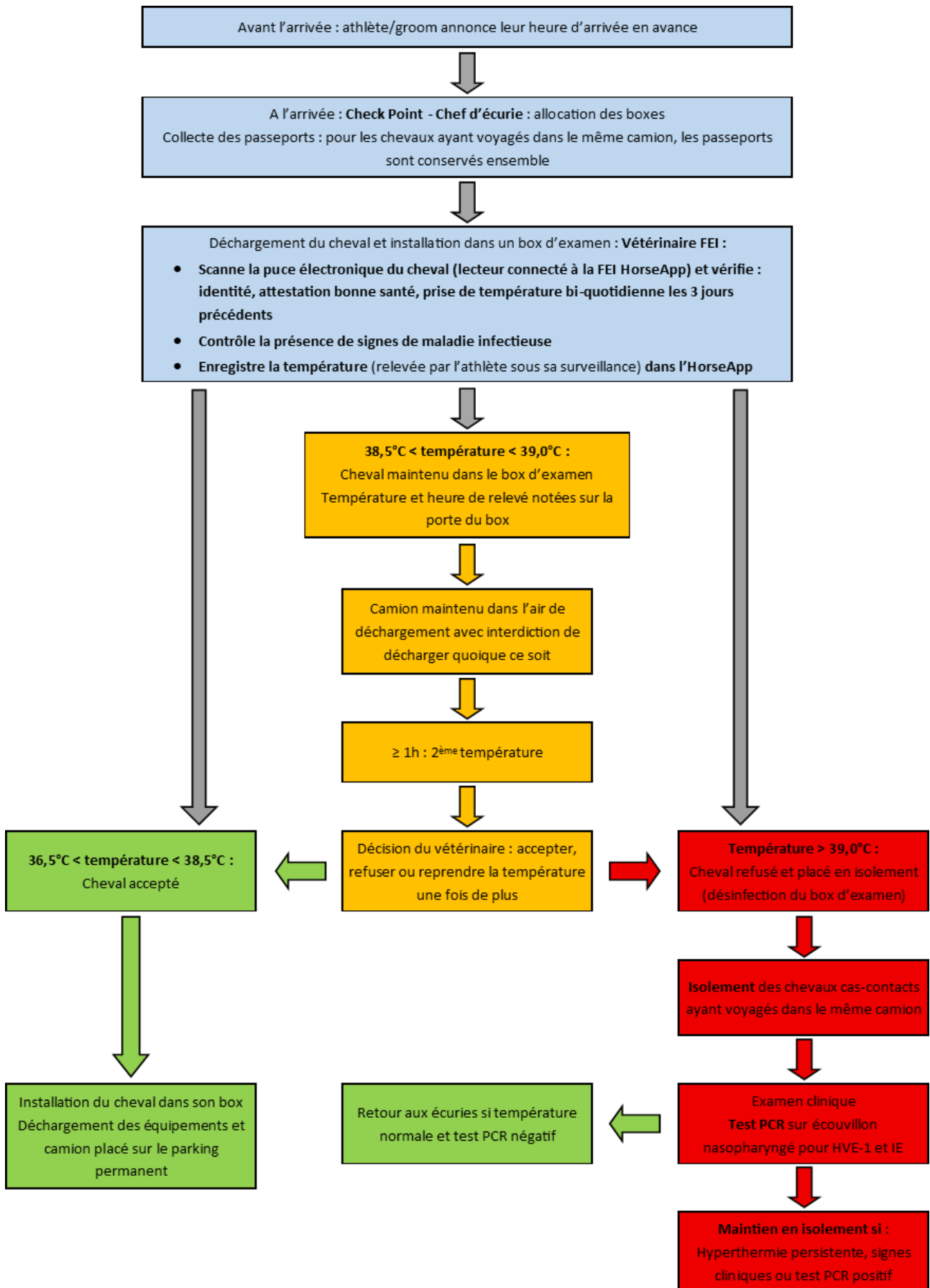


FIGURE 15 : ETAPE DE L'EXAMEN A L'ARRIVEE ET ARBRE DECISIONNEL SELON LA TEMPERATURE. D'APRES LE RAPPORT HVE-1 DE LA FEI,

Une température normale est considérée comme étant comprise entre 36,5 et 38,5°C. Dans ce cas, le cheval pourra accéder aux écuries et être installé dans son box. Tous les équipements du cavalier pourront être déchargés et le camion installé sur le parking permanent.

Lorsque sa température excède 39,0°C ou des signes de maladies infectieuses sont présents, le cheval est directement placé en isolement, ainsi que tous les chevaux ayant voyagé avec lui. Des écouvillons nasopharyngés seront prélevés et testés par PCR pour l'HVE-1 et la grippe équine, dans un laboratoire partenaire de la FEI. Les chevaux isolés ne pourront retourner dans les écuries de la compétition, qu'à condition que leur température revienne dans les normes et que les tests PCR reviennent négatifs. Pendant ce temps, le camion sera maintenu sur le parking provisoire et les équipements resteront à bord.

Dans le cas où la température relevée est comprise entre 38,5 et 39,0°C, celle-ci pourra de nouveau être prise au bout d'une heure. En effet, le stress du transport pouvant modifier la température rectale, le but est de laisser le cheval se calmer avant de vérifier la température. Soit la température retombe et le cheval peut accéder aux écuries, soit celle-ci reste trop élevée et le cheval est mis en isolation pour être testé.

5.4.3. Suivi des chevaux durant l'évènement

Tout au long de l'évènement, les cavaliers, ou toute autre personne responsable, ont l'obligation de relever la température de leurs chevaux matin et soir, et devront l'inscrire dans l'HorseApp. Les vétérinaires sur place pourront contrôler les variations de températures via l'application. Cependant l'utilisation d'une application ne dispense pas les cavaliers d'informer directement les équipes vétérinaires en cas de changement dans l'état de santé de leurs chevaux.

Si des signes neurologiques ou une hyperthermie supérieure à 38,5°C sont observés, le cheval concerné sera mis en quarantaine et testé par PCR pour la rhinopneumonie et la grippe équine.

5.5. Procédures d'urgence

Si la présence d'une maladie infectieuse est confirmée sur le site d'un évènement FEI, le plan de contingence en matière de biosécurité doit être immédiatement mis en

application : isolement des chevaux malades et/ou positif, séparation des cas contacts le temps d'être testé, désinfection des boxes, restriction des mouvements sur site, *etc.* Le but est bien évidemment de limiter la propagation au maximum et surtout le plus rapidement possible ; ainsi aucun cheval ne sera autorisé à quitter le site sauf autorisation.

Contrairement à ce qu'il s'est passé à Valence, toute suspicion et/ou cas confirmé de maladie infectieuse, doit être immédiatement rapporté au département vétérinaire de la FEI.

Pour rappel, lors du CES Valencia, la FEI a pris la décision de suspendre la compétition le 20 février en accord avec l'article 109 de la réglementation générale de la FEI. Pourtant, le lendemain le CO a poursuivi la compétition malgré l'ordre exprès de la FEI. Ainsi la fédération a tenu à rappeler, dans les modifications des Vet Regulation, article 1029, qu'elle a toute autorité pour annuler un évènement, y compris lorsqu'il est en cours, et ce avec effet immédiat.

Conclusion

L'épidémie d'HVE-1 du CES Valence, comme les épidémies précédemment observées, a eu de lourdes conséquences, tant en termes de santé qu'en termes économiques. Bien que la Myéloencéphalopathie Équine à Herpèsvirus soit une forme de rhinopneumonie considérée comme rare, durant les 20 dernières années, de plus en plus de foyers épidémiques ont été observés. Le dernier en date a été celui de Valence en Espagne.

L'étude clinique et épidémiologique de cet événement a permis de repérer les points clés d'une épidémie HVE-1 tels que des facteurs de risque (sexe, âge et environnement) et les failles de biosécurité.

En effet, cette épidémie a mis en lumière de nombreuses défaillances dans l'organisation de cet événement. Malgré l'existence d'un règlement vétérinaire accessible et revu chaque année, celui-ci semble avoir été peu voire pas respecté sur beaucoup d'aspect de biosécurité. L'analyse des erreurs commises à Valence, a permis à la FEI d'apporter les modifications nécessaires à la réglementation afin d'éviter qu'une telle épidémie ne se reproduise. Ainsi l'application FEI HorseApp révolutionne la prise en charge et le suivi des chevaux lors des compétitions, et permettra probablement d'anticiper les problèmes et d'éviter la propagation de maladies infectieuses.

D'autre part, l'étude diagnostique, à travers des typages et des études phylogénétiques des virus prélevés sur les chevaux atteints, a permis de découvrir une nouvelle mutation et ainsi de créer un marqueur pour suivre la propagation du virus HVE-1 Valencia à la suite de l'épidémie.

Pour finir, la question centrale qui persiste après cette épidémie, est, si oui ou non la vaccination contre la rhinopneumonie devra être obligatoire un jour. Cela dépendra des progrès à venir en termes d'efficacité et de disponibilité de vaccin. Mais à l'heure actuelle, les dirigeants de la FEI considèrent que les informations disponibles sur une vaccination de masse, ne sont pas suffisantes pour l'appliquer.

Bibliographie

- [1] M. Jourdain et C. Geyl, « Epidémie de rhinopneumonie 2018 : quels impacts sanitaires et financiers ? », *Obs. Économique Soc. Cheval*, p. 7, mai 2019.
- [2] « Modifications au code des courses au galop », *France Galop*, n° 24 bis, p. 54, déc. 2017.
- [3] « Bulletin de la Société d'Encouragement à l'Élevage du Cheval Français », *Le trot*, n° 23, juin 2018.
- [4] G. Ma, W. Azab, et N. Osterrieder, « Equine herpesviruses type 1 (EHV-1) and 4 (EHV-4)—Masters of co-evolution and a constant threat to equids and beyond », *Vet. Microbiol.*, vol. 167, n° 1-2, p. 123-134, nov. 2013, doi: 10.1016/j.vetmic.2013.06.018.
- [5] J. Tapprest, N. Foucher, C. Sevin, et C. Laugier, « Étude rétrospective sur les principales causes d'avortement chez la jument - bulletin n°12 », *Respe - Réseau d'Epidémio-Surveillance en Pathologie Équine*, 15 juin 2004. <https://respe.net/etude-retrospective-sur-les-principales-causes-davortement-chez-la-jument-bulletin-n12/> (consulté le 26 septembre 2022).
- [6] N. Pusterla et G. S. Hussey, « Equine Herpesvirus 1 Myeloencephalopathy », *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, vol. 30, n° 3, p. 489-506, déc. 2014, doi: 10.1016/j.cveq.2014.08.006.
- [7] N. T. Saklou, B. A. Burgess, L. V. Ashton, P. S. Morley, et L. S. Goehring, « Environmental persistence of equid herpesvirus type-1 », *Equine Vet. J.*, vol. 53, n° 2, p. 349-355, mars 2021, doi: 10.1111/evj.13313.
- [8] A. Couroucé *et al.*, « EHV-1 neurological outbreak during a show-jumping competition: a clinical and epidemiological study », *Equine Vet. J.*, vol. 53, n° S56, p. 52-52, 2021, doi: 10.1111/evj.75_13495.
- [9] « FEI 2021 Veterinary Regulations 14th Edition 2018, Effective 1 January 2021 », Fédération équestre internationale, janv. 2021.
- [10] G. Sutton *et al.*, « Identification of a New Equid Herpesvirus 1 DNA Polymerase (ORF30) Genotype with the Isolation of a C2254/H752 Strain in French Horses Showing no Major Impact on the Strain Behaviour », *Viruses*, vol. 12, n° 10, p. 1160, oct. 2020, doi: 10.3390/v12101160.
- [11] I. S. Diallo, G. Hewitson, L. Wright, B. J. Rodwell, et B. G. Corney, « Detection of equine herpesvirus type 1 using a real-time polymerase chain reaction », *J. Virol. Methods*, vol. 131, n° 1, p. 92-98, janv. 2006, doi: 10.1016/j.jviromet.2005.07.010.
- [12] M. Garvey, R. Lyons, R. D. Hector, C. Walsh, S. Arkins, et A. Cullinane, « Molecular Characterisation of Equine Herpesvirus 1 Isolates from Cases of Abortion,

- Respiratory and Neurological Disease in Ireland between 1990 and 2017 », *Pathogens*, vol. 8, n° 1, p. 7, janv. 2019, doi: 10.3390/pathogens8010007.
- [13] J. R. Landis et G. G. Koch, « The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data », *Biometrics*, vol. 33, n° 1, p. 159, mars 1977, doi: 10.2307/2529310.
- [14] G. Sutton *et al.*, « Equine Herpesvirus 1 Variant and New Marker for Epidemiologic Surveillance, Europe, 2021 », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 27, n° 10, p. 2738-2739, oct. 2021, doi: 10.3201/eid2710.210704.
- [15] « EHV-1 Report - European Outbreak 2021 », *FEI*, 28 février 2022. <https://inside.fei.org/fei/your-role/veterinarians/biosecurity-movements/biosecurity/ehv-1/report> (consulté le 13 janvier 2023).
- [16] A. Dayaram *et al.*, « Long term stability and infectivity of herpesviruses in water », *Sci. Rep.*, vol. 7, p. 46559, avr. 2017, doi: 10.1038/srep46559.
- [17] S. Pronost *et al.*, « Les infections à herpèsvirus équin 1 : quels enseignements tirer des dernières épizooties ? », vol. 46, p. 154, 2014.
- [18] « 2020 American equestrian federation rulebook ». American Equestrian Federation, 2020.
- [19] J. H. Kydd, H. G. G. Townsend, et D. Hannant, « The equine immune response to equine herpesvirus-1: The virus and its vaccines », *Vet. Immunol. Immunopathol.*, vol. 111, n° 1-2, p. 15-30, mai 2006, doi: 10.1016/j.vetimm.2006.01.005.
- [20] G. van Galen, A. Leblond, P. Tritz, L. Martinelle, S. Pronost, et C. Saegerman, « A retrospective study on equine herpesvirus type-1 associated myeloencephalopathy in France (2008–2011) », *Vet. Microbiol.*, vol. 179, n° 3, p. 304-309, sept. 2015, doi: 10.1016/j.vetmic.2015.07.003.
- [21] L. S. Goehring *et al.*, « Control of EHV-1 viremia and nasal shedding by commercial vaccines », *Vaccine*, vol. 28, n° 32, p. 5203-5211, juill. 2010, doi: 10.1016/j.vaccine.2010.05.065.
- [22] J. G. M. Heldens *et al.*, « Clinical and virological evaluation of the efficacy of an inactivated EHV1 and EHV4 whole virus vaccine (Duvaxyn EHV1,4). Vaccination/challenge experiments in foals and pregnant mares », *Vaccine*, vol. 19, n° 30, p. 4307-4317, juill. 2001, doi: 10.1016/S0264-410X(01)00131-1.
- [23] H. Bannai *et al.*, « Successful Control of Winter Pyrexias Caused by Equine Herpesvirus Type 1 in Japanese Training Centers by Achieving High Vaccination Coverage », *Clin. Vaccine Immunol.*, vol. 21, n° 8, p. 1070-1076, août 2014, doi: 10.1128/CVI.00258-14.
- [24] D. p. Lunn *et al.*, « Equine Herpesvirus-1 Consensus Statement », *J. Vet. Intern. Med.*, vol. 23, n° 3, p. 450-461, 2009, doi: 10.1111/j.1939-1676.2009.0304.x.

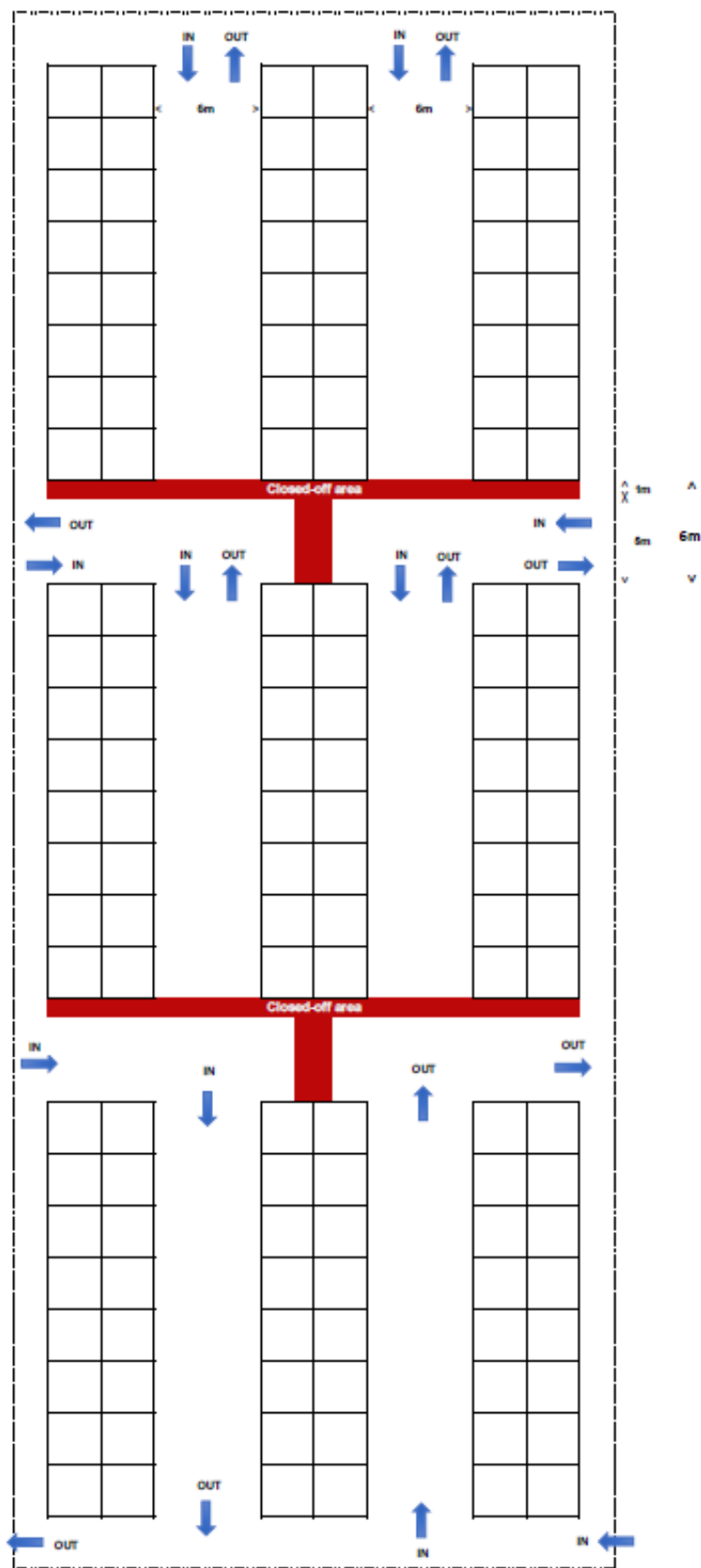
- [25] D. Bedenice et A. L. Johnson, « Neurologic Conditions Affecting the Equine Athlete », *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, vol. 34, n° 2, p. 277-297, août 2018, doi: 10.1016/j.cveq.2018.04.006.
- [26] R. W. Henninger *et al.*, « Outbreak of Neurologic Disease Caused by Equine Herpesvirus-1 at a University Equestrian Center », *J. Vet. Intern. Med.*, vol. 21, n° 1, p. 157-165, 2007, doi: 10.1111/j.1939-1676.2007.tb02942.x.
- [27] G. P. Allen, « Risk factors for development of neurologic disease after experimental exposure to equine herpesvirus-1 in horses », *Am. J. Vet. Res.*, vol. 69, n° 12, p. 1595-1600, déc. 2008, doi: 10.2460/ajvr.69.12.1595.
- [28] L. S. Goehring, S. C. van Winden, C. van Maanen, et M. M. S. van Oldruitenborgh-Oosterbaan, « Equine Herpesvirus Type 1-Associated Myeloencephalopathy in The Netherlands: A Four-Year Retrospective Study (1999–2003) », *J. Vet. Intern. Med.*, vol. 20, n° 3, p. 601-607, 2006, doi: 10.1111/j.1939-1676.2006.tb02903.x.
- [29] H. Negussie, D. Gizaw, T. S. Tessema, et H. J. Nauwynck, « Equine Herpesvirus-1 Myeloencephalopathy, an Emerging Threat of Working Equids in Ethiopia », *Transbound. Emerg. Dis.*, vol. 64, n° 2, p. 389-397, 2017, doi: 10.1111/tbed.12377.
- [30] J. I. Traub-Dargatz *et al.*, « Case–Control Study of a Multistate Equine Herpesvirus Myeloencephalopathy Outbreak », *J. Vet. Intern. Med.*, vol. 27, n° 2, p. 339-346, 2013, doi: 10.1111/jvim.12051.
- [31] R. W. Henninger *et al.*, « Outbreak of Neurologic Disease Caused by Equine Herpesvirus-1 at a University Equestrian Center », *J. Vet. Intern. Med.*, vol. 21, n° 1, p. 157-165, 2007, doi: 10.1111/j.1939-1676.2007.tb02942.x.
- [32] N. Pusterla *et al.*, « Prevalence of EHV-1 in adult horses transported over long distances », *Vet. Rec.*, vol. 165, n° 16, p. 473-475, 2009, doi: 10.1136/vr.165.16.473.
- [33] N. Pusterla *et al.*, « Comparison of Four Methods to Quantify *Equid Herpesvirus 1* Load by Real-Time Polymerase Chain Reaction in Nasal Secretions of Experimentally and Naturally Infected Horses », *J. Vet. Diagn. Invest.*, vol. 21, n° 6, p. 836-840, nov. 2009, doi: 10.1177/104063870902100611.
- [34] N. Pusterla *et al.*, « Characterization of viral loads, strain and state of equine herpesvirus-1 using real-time PCR in horses following natural exposure at a racetrack in California », *Vet. J.*, vol. 179, n° 2, p. 230-239, févr. 2009, doi: 10.1016/j.tvjl.2007.09.018.
- [35] N. Pusterla, S. Mapes, et W. D. Wilson, « Use of viral loads in blood and nasopharyngeal secretions for the diagnosis of ehv-1 infection in field cases », *Vet. Rec.*, vol. 162, n° 22, p. 728-729, 2008, doi: 10.1136/vr.162.22.728.
- [36] I. S. Diallo, G. Hewitson, L. Wright, B. J. Rodwell, et B. G. Corney, « Detection of equine herpesvirus type 1 using a real-time polymerase chain reaction », *J. Virol. Methods*, vol. 131, n° 1, p. 92-98, janv. 2006, doi: 10.1016/j.jviromet.2005.07.010.

- [37] B. a. Burgess *et al.*, « Nasal Shedding of Equine Herpesvirus-1 from Horses in an Outbreak of Equine Herpes Myeloencephalopathy in Western Canada », *J. Vet. Intern. Med.*, vol. 26, n° 2, p. 384-392, 2012, doi: 10.1111/j.1939-1676.2012.00885.x.
- [38] N. Pusterla, S. Mapes, et W. D. Wilson, « Diagnostic sensitivity of nasopharyngeal and nasal swabs for the molecular detection of EHV-1 », *Vet. Rec.*, vol. 162, n° 16, p. 520-521, avr. 2008, doi: 10.1136/vr.162.16.520.
- [39] R. Paillot *et al.*, « Duration of equine influenza virus shedding and infectivity in immunised horses after experimental infection with EIV A/eq2/Richmond/1/07 », *Vet. Microbiol.*, vol. 166, n° 1, p. 22-34, sept. 2013, doi: 10.1016/j.vetmic.2013.04.027.
- [40] J. Nugent *et al.*, « Analysis of Equid Herpesvirus 1 Strain Variation Reveals a Point Mutation of the DNA Polymerase Strongly Associated with Neuropathogenic versus Nonneuropathogenic Disease Outbreaks », *J. Virol.*, vol. 80, n° 8, p. 4047-4060, avr. 2006, doi: 10.1128/JVI.80.8.4047-4060.2006.
- [41] S. Pronost *et al.*, « Neuropathogenic and non-neuropathogenic variants of equine herpesvirus 1 in France », *Vet. Microbiol.*, vol. 145, n° 3, p. 329-333, oct. 2010, doi: 10.1016/j.vetmic.2010.03.031.
- [42] K. L. Smith *et al.*, « The increased prevalence of neuropathogenic strains of EHV-1 in equine abortions », *Vet. Microbiol.*, vol. 141, n° 1, p. 5-11, févr. 2010, doi: 10.1016/j.vetmic.2009.07.030.
- [43] M. A. Vissani, M. L. Becerra, C. Olguín Perglione, M. S. Tordoya, S. Miño, et M. Barrandeguy, « Neuropathogenic and non-neuropathogenic genotypes of Equid Herpesvirus type 1 in Argentina », *Vet. Microbiol.*, vol. 139, n° 3, p. 361-364, nov. 2009, doi: 10.1016/j.vetmic.2009.06.025.
- [44] S. Pronost, R. F. Cook, G. Fortier, P. J. Timoney, et U. B. R. Balasuriya, « Relationship between equine herpesvirus-1 myeloencephalopathy and viral genotype », *Equine Vet. J.*, vol. 42, n° 8, p. 672-674, 2010, doi: 10.1111/j.2042-3306.2010.00307.x.
- [45] N. Pusterla *et al.*, « Investigation of an EHV-1 Outbreak in the United States Caused by a New H752 Genotype », *Pathogens*, vol. 10, n° 6, p. 747, juin 2021, doi: 10.3390/pathogens10060747.
- [46] N. A. Bryant *et al.*, « Genetic diversity of equine herpesvirus 1 isolated from neurological, abortigenic and respiratory disease outbreaks », *Transbound. Emerg. Dis.*, vol. 65, n° 3, p. 817-832, 2018, doi: 10.1111/tbed.12809.
- [47] Sutton *et al.*, « Molecular Surveillance of EHV-1 Strains Circulating in France during and after the Major 2009 Outbreak in Normandy Involving Respiratory Infection, Neurological Disorder, and Abortion », *Viruses*, vol. 11, n° 10, p. 916, oct. 2019, doi: 10.3390/v11100916.
- [48] N. Vereecke, F. Carnet, S. Pronost, K. Vanschandevijl, S. Theuns, et H. Nauwynck, « Genome Sequences of Equine Herpesvirus 1 Strains from a European Outbreak

of Neurological Disorders Linked to a Horse Gathering in Valencia, Spain, in 2021 », *Microbiol. Resour. Announc.*, vol. 10, n° 20, p. e00333-21, mai 2021, doi: 10.1128/MRA.00333-21.

- [49] J. Kubacki, J. Lechmann, C. Fraefel, et C. Bachofen, « Genome Sequence of Equid Alphaherpesvirus 1 (EHV-1) from a Nasal Swab of a Swiss Horse Associated with a Major EHV-1 Outbreak following a Show Jumping Event in Valencia, Spain », *Microbiol. Resour. Announc.*, vol. 10, n° 34, p. e0073221, août 2021, doi: 10.1128/MRA.00732-21.
- [50] « FEI 2023 Veterinary Regulations 14th Edition 2018, Effective 1 January 2023 », Fédération équestre internationale, janv. 2023.
- [51] « FEI 2022 Veterinary Regulations 14th Edition 2018, Effective 1 January 2022 », Fédération équestre internationale, juin 2022.
- [52] « Erklärfilm zur Herpes-Impfung | FN », *Deutsche Reiterliche Vereinigung*. <https://www.pferd-aktuell.de/news/aktuelle-meldungen/pferdehaltung/erklaerfilm-zur-herpes-impfung> (consulté le 16 janvier 2023).
- [53] « La vaccination contre la rhinopneumonie obligatoire en 2022 - Actualités », *SHF - Société Hippique Française*. <https://www.shf.eu/fr/actualites/divers/vaccination-contre-rhinopneumonie-obligatoire,1038.html> (consulté le 16 janvier 2023).

Annexe n° 1 : Exemple de plan d'écurie et de sens de circulation des chevaux, avec 6 mètres entre chaque bloc de 16 boxes.



SOURCE : RAPPORT HVE-1 DE LA FEI – PARTIE 2, ANNEXE 13.

Annexe n°2 : Check-list de la pré-inspection réalisée par les services vétérinaires de la FEI.

ITEMS	YES	NO	COMMENTS
Biosecurity plan and a mitigation plan for outbreaks of Infectious disease (according to Article 1018 of the FEI Veterinary Regulations)			
Designated Examination on Arrival Area			
STABLING			
Good ventilation allowing for air renewal, with a sufficient number of doors, windows and vents.			
Aisles with one-way systems			
Different stabling areas for vaccinated and unvaccinated horses			
No more than 100 horses stabled overnight in a shared airspace (Or: Not more than 200 horses stabled overnight sharing the same airspace. Boxes must be grouped in units of up to 16 boxes. Minimum six-metre distance in all directions between each unit of 16 boxes.			
A clipboard outside the stable of each horse to display the FEI temperature recording chart.			
Cleaning and disinfection plan of stables with a designated responsible person within the OC.			
Cleaning and disinfection protocol for treatment boxes/onsite clinic (if applicable) with a designated responsible person within the VSM team.			
A restricted stable area with a system to check the entry and exit of all Horses and the accreditation required by all personnel entering the stables.			
ISOLATION STABLES			
Isolation/quarantine area at least 50 metres from any flow of horses, whether indoors or outdoors.			
Isolation/quarantine area not in the same stabling area or same airspace as non-isolated horses.			
Available disposable boot covers and disposable or washable coveralls, warm water, liquid soap, paper towels, hand sanitiser to be used in the isolation stables.			
A minimum of two individual isolation boxes per 100 horses.			
Isolation Overflow Site for horses transported together that need to be isolated at the same time after the examination upon arrival (Pre-approved external location may be used within 10 km). - Two separate units of four boxes as a minimum for any event with overnight stabling. - For events with more than 400 horses there must be a minimum of four separate units of four boxes.			
WATER AND DISINFECTION FACILITIES			
Handwashing facilities (with soap/gel, paper towels and disposal unit) clearly signposted			
Handwashing/hand disinfection at entry/exit points of stables			
No common water troughs			
Available disinfection points for spraying equipment, footwear etc.			
PERSONNEL			
For Shows/Events with more than 200 horses: an Additional VD per each additional 200 horses.			
ANY OTHER COMMENTS			

SOURCE : RAPPORT HVE-1 DE LA FEI – PARTIE 2, ANNEXE 4.

Annexe n°3 : EHV-1 By-Laws : règlement général HVE-1.

Extrait d'un communiqué de la FEI après validation du conseil de la fédération de cette nouvelle réglementation en vue de la reprise des événements FEI. Ce règlement a été appliqué en Europe du 31 mai 2021 au 31 décembre 2021, et a été par la suite intégré à la réglementation vétérinaire en vigueur au sein de la FEI.

NF News – FEI Board approves EHV-1 By-Laws

According to the FEI Board Resolution of 30 March 2021, the FEI issued the EHV-1 By-Laws (Return To Competition measures) to apply to all Events in Mainland Europe held under FEI jurisdiction from 12 April to 30 May 2021.

Based on the experience gained during this time, and following the assessment made together with the FEI Veterinary Epidemiology Working Group and in close cooperation with the relevant stakeholders (including but not only the Equestrian Organisers), the FEI Board has approved certain amendments and extensions to the EHV-1 By-Laws as defined below.

The EHV-1 By-Laws as detailed below will be applicable in Mainland Europe from 31 May 2021 – 31 December 2021. The measures will be included in the draft 2022 FEI Veterinary Regulations and, subject to approval at the FEI General Assembly, will be implemented globally from 1 January 2022.

1. Further to a declared outbreak of suspected or confirmed neurological EHV, increased jurisdiction for the FEI Secretary General to stop events and to request the Persons Responsible to register the GPS location of their horse(s) via the FEI HorseApp (***).
2. All Organising Committees (OCs) to submit the Biosecurity Plan to the Veterinary Delegate (VD) at least 10 days in advance of the opening of the stables (*).
3. Mandatory use of FEI HorseApp by the VD/VC or a veterinarian assigned by the VD/VC at Examination on Arrival with registration of horses' rectal temperatures (**).
4. Mandatory checkout of horses by the OC using the FEI HorseApp (*).
5. Mandatory rectal temperature checks of all horses twice daily at events, with the readings posted on a chart outside each horse's box (**).
6. Isolation of entire transport in cases of horses arriving with rectal temperature over 38.5C to the Examination on Arrival (**).
7. Isolation unit requirements (protocols, equipment) (**).
8. Cleaning and disinfection requirements including sealed boxes (**).
9. Mandatory isolation overflow (*).
10. Self-declaration by athlete including horse rectal temperatures for the 10 days before arrival to the event (from 1 August 2021 this must be recorded on the FEI HorseApp by the PR/Groom) (*).
11. For events with horses staying on the venue over consecutive weeks – onsite venue inspection by the FEI Veterinary Department or a veterinarian appointed by the FEI Veterinary Department at least once annually. FVD appointed by the FEI Veterinary Department (appoint FVDs from neighbouring countries when possible). Until 1 July 2021, the FEI Veterinary Department will accept the already appointed Veterinary Delegate for the role as Foreign Veterinary Delegate. (****).
12. At events with more than 400 horses onsite at any one time, additional VDs are required (1/400 horses) based on the maximum number of horses for all FEI Event categories as declared in the Event Schedule. (Changes will not be allowed after the deadline for amendments to the Event Schedule) (*).
13. There must be a sufficient number of Treating Vets appointed by the OC. (At least 1/200 horses) (****).
14. Before flights alternatively entering Pre-Export Quarantine going to FEI Events, each horse must present a negative PCR result for EHV 1 and 4, and for Equine Influenza sampled by a nasopharyngeal swab. The sample must be taken no more than 96h before the flight or entrance to the Pre-Export Quarantine (*).
15. The VD/VC must ensure that any horse displaying fever or neurological signs at an FEI Event is sampled using a nasopharyngeal swab and sent to a laboratory listed by the FEI. The FEI Veterinary Department will fund the analysis and costs for shipping and material for the index case (****).

LEGEND:

- * Prolongation of certain by-laws (some are amended).
- ** Clarification of existing VRs.
- *** Already approved by the FEI Board.
- **** New by-law.

All points listed above, except number 1, are to be considered Emergency Board Resolutions as per Article 20.3 of the FEI Statutes.

SOURCE : RAPPORT HVE-1 DE LA FEI – PARTIE 2, ANNEXE 1.

Maureen LONGRAIS

ETUDE CLINIQUE ET EPIDEMIOLOGIQUE D'UNE EPIDEMIE D'EHV-1 AU COURS D'UN CONCOURS INTERNATIONAL DE SAUT D'OBSTACLES (CSI) A VALENCE – Espagne

CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL STUDIE OF AN EHV-1 OUTBREAK DURING A SHOW6JUMPING COMPETITION IN VALENCIA – SPAIN

Thèse d'État de Doctorat Vétérinaire : Nantes, le 03 mars 2023

RESUME en français

En février 2021 lors d'un concours international de saut d'obstacles prenant place au CES Valence en Espagne, une épidémie d'EHV-1 s'est déclarée. De nombreux chevaux ont développé des signes cliniques dont la forme neurologique, la Myéloencéphalopathie Equine à Herpèsvirus. Une étude clinique, épidémiologique et diagnostique a été menée sur un panel de chevaux restés en quarantaine sur site. Cette étude a permis de dégager des facteurs de risque, mais aussi de faire évoluer les méthodes diagnostiques. A la suite de cet événement, la FEI a fait évoluer ces protocoles en matière d'organisation d'évènement hippique et de gestion de biosécurité des maladies infectieuses. L'application FEI HorseApp va permettre de faciliter les contrôles des chevaux à l'avenir.

MOTS CLES :

- EHV-1
- Cheval
- Équidé
- Étude clinique
- Épidémiologie
- Concours saut d'obstacle
- Espagne

DATE DE SOUTENANCE : Vendredi 03 Mars 2023